

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

Vliv koncentrace pufru na degradaci větvených oligoesterů

**Influence of buffer concentration on the branched oligoesters
degradation**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2015

Vypracovala: Nela Kočárková
Vedoucí práce: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Nela Kočárková

Tímto děkuji svému školiteli Doc. RNDr. Milanovi Dittrichovi, CSc. za trpělivé vedení a cenné rady při vypracovávání této diplomové práce.

ABSTRAKT

V teoretické části práce je pozornost věnována přehledu relevantních vlastností polyesterů alifatických hydroxykyselin s hlavním důrazem na jejich hydrolytickou degradaci. V další části je pojednáno o využití materiálu pro hojení ran. V experimentální části jsou prezentovány výsledky studia interakcí biodegradabilního oligomeru kyseliny mléčné a kyseliny glykolové větveného na mannitolu s vodným médiem zastoupeným řadou roztoků fosfátového pufru s různou koncentrací elektrolytu. Byly měřeny dva základní parametry, které souvisí s kinetikou uvolňování léčivých látek z matricových systémů definovaného iniciálního tvaru a velikosti. Byly hodnoceny časové řady průběhu bobtnání a eroze při teplotě 37 °C a pH 7,0. Bylo prokázáno, že relativně malé změny koncentrace pufrů mají značný vliv na průběh bobtnání. Ve srovnání s průběhem eroze byla prokázána souvislost pouze v některých případech, kdy se jednalo o ovlivnění autokatalytické hydrolýzy stupněm bobtnání.

ABSTRACT

The aim of theoretical part of this thesis is focused on the review of relevant properties of aliphatic hydroxyacids polyesters. The main emphasis was paid to hydrolytic degradation. In the second deals with the exploitation of the material for wounds healing process. In the experimental part are results of study of interaction of biodegradable oligomer of lactic acid and glycolic acid branched on mannitol with aqueous medium. This medium was represented by the range of phosphate buffers solutions with various concentrations of electrolyte. Swelling and erosion as two main processes connected with the kinetics of drug release from matrix systems were measured. These matrices were defined by their initial shape and size. Swelling and erosion were evaluated at 37 °C and pH 7.0. Relatively small variables of buffer concentration dramatically influence the swelling course. In the comparison of swelling with erosion course was correlation established only in some cases concerning influence of autocatalytic hydrolysis on the swelling degree.

Seznam použitých zkratk

- GA - glykolová kyselina
- LA - mléčná kyselina
- PLGA - kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
- PLA - poly - mléčná kyselina
- PDLLA - poly DL - mléčná kyselina
- PGA - poly - glykolová kyselina
- PDLA - poly D - mléčná kyselina
- PLLA - poly L - mléčná kyselina
- AHA - α - hydroxy kyselina
- Tg- teplota skelného přechodu
- PVA - polyvinylalkohol
- PEO - polyethylenoxid
- (γ -PGA) - γ - poly - glutamová kyselina
- 3M - kopolymer kyseliny mléčné a glykolové s přídavkem mannitolu
- M_w - hmotnostně střední relativní molekulová hmotnost
- M_n - relativní molekulová hmotnost
- g' - stupeň větvení
- m_L - hmotnost prázdné lahvičky (g)
- m_0 - původní hmotnost tělíska (g)
- m_{Lb} - hmotnost lahvičky s nabobtnaným tělískem (g)
- m_b - hmotnost nabobtnaného tělíska (g)
- m_{Ls} - hmotnost lahvičky s vysušeným tělískem (g)
- m_s - hmotnost vysušeného tělíska (g)
- B - stupeň bobtnání (%)
- E - stupeň eroze (%)

Obsah

Úvod	1
1 Teoretická část	2
1.1 Biodegradabilní polymery.....	2
1.1.1 Přírodní a syntetické polymery	2
1.1.2 Syntéza PGA, PLA a jejich využití ve zdravotnictví.....	3
1.1.3 Vlastnosti a použití PLGA.....	3
1.1.4 Degradace	5
1.1.5 Uvolňování léčiva	8
1.1.6 Eroze	9
1.1.7 Mechanismus bobtnání	10
1.2 Využití polymerních materiálů při hojení ran.....	11
1.2.1 Rozdělení polymerních materiálů	12
1.2.2 Tradiční krytí ran	13
1.2.3 Biokompatibilita polymerních materiálů	13
1.2.4 Interpolymerní komplexy	14
1.2.5 Hydrokoloidy	14
1.2.6 Bioaktivní látky a léčiva	14
1.2.7 Lyofilizované destičky.....	15
1.2.8 Hydrogely	15
1.2.9 Fólie pro hojení ran.....	16
2 Praktická část.....	17
2.1 Experimentální část.....	17
2.1.1 Příprava polymerní matrice	18
2.1.2 Příprava pufru	18
2.1.3 Testování matrice.....	19

2.1.4	3.1.4 Stanovení stupně bobtnání a eroze.....	19
3	Výsledky – tabulky a Obr.y	20
3.1	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – tabulky, 1. měření	20
3.2	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – tabulky, 2.měření.	27
3.3	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. -21. dne – tabulky, průměrné hodnoty obou měření.....	33
3.4	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – obrázky, 1. měření.	36
3.5	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – obrázky, 2. měření.	42
3.6	Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. -21. dne- obrázky. Průměrné hodnoty obou měření.	48
4	Diskuse	54
4.1	K tématu diplomové práce	54
4.2	K bobtnání a erozi v prostředí čištěné vody.....	54
4.3	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,125 násobku isotonického roztoku	55
4.4	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,25 násobku isotonického roztoku	56
4.5	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,375 násobku isotonického roztoku	56
4.6	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,5 násobku isotonického roztoku	57

4.7	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,6 násobku isotonického roztoku	58
4.8	K bobtnání a erozi v prostředí pufru o isotonické a hypertonické koncentraci ...	58
5	Závěr	59
	Použitá literatura	60

Zadání práce

Cílem diplomové práce bylo prostudovat průběh bobtnání a eroze terpolymeru odvozeného od kyseliny DL - mléčné a kyseliny glykolové větveného na centrální molekule mannitolu syntetizovaného na katedře farmaceutické technologie FaF UK. Zadáno bylo zvolit teplotu vodného média 37 °C a hmotnost tělísek definovaného tvaru 150 mg. Vodné médium mělo být modifikováno přísadou fosfátového pufru různé koncentrace od nulové do hypertonické. Dalším úkolem bylo zjistit, jaká je reprodukovatelnost hodnot zjištěných u vzorků testovaných ve dvou sériích, každé ve dvou opakováních.

Úvod

Biodegradabilní polymery mají rozsáhlé možnosti využití. Mohou být použity jako nosiče léčiv nebo zdravotnické prostředky. Řízené uvolňování léčiv umožňuje uvolňovat účinnou látku v řádech dnů, ale až několika měsíců. Mezi hlavní výhody tohoto podávání patří zvýšené pohodlí pacienta a compliance. Syntetické polymerní systémy, které kontrolují a umožňují postupné uvolňování, jsou také materiály zajišťující zvýšení tkáňové regenerace a používají se jako nosiče ke krytí ran. Implantát připravený z biologicky rozložitelného polymeru může degradovat takovou rychlostí, která je pro pacienta optimální a není nutné opakovat chirurgický zákrok. Výzkum vlastností biodegradabilních polymerů je důležitý pro jejich uplatnění v praxi.

1 Teoretická část

1.1 Biodegradabilní polymery

Polymer je složen z množství opakujících se monomerních jednotek, které jsou spojeny kovalentní vazbou. Americká společnost pro testování materiálů definuje biodegradabilní materiál jako materiál, schopný podstoupit rozklad na oxid uhličitý, metan, vodu, anorganické produkty nebo biomasu. Biologicky rozložitelné produkty jsou velmi užitečné ve zdravotnictví. Například polymery připravené z kyseliny mléčné a glykolové jsou používány jako šicí biodegradabilní syntetický materiál již od roku 1960 (1). Biologicky odbouratelné prostředky se v medicíně používají jako pomůcky ortopedických fixací, u kardiovaskulárních aplikací, u aplikací ve střevě, ve tkáňovém inženýrství a v zubním lékařství. Většina z užívaných biodegradabilních polymerů je homopolymer nebo kopolymer kyseliny mléčné nebo glykolové (2).

1.1.1 Přírodní a syntetické polymery

Biodegradabilní polymery mohou být syntetického nebo přírodního původu. Jsou degradovány na bezpečné produkty, které jsou netoxické a mohou být vyloučeny z těla metabolickým procesem (3). Biopolymer je polymer přírodního původu, který může být zastoupen v celé řadě materiálů. V přírodě se vyskytuje nejvíce jako celulóza a chitin. Biopolymery jsou získávány z obnovitelných zdrojů a jsou biodegradovány. Rozkládají se působením živých organismů na degradační produkty. Velkým pokrokem ve výrobě biodegradabilních produktů byla výroba z biopolymerů, mezi které patří škrob, celulóza, kyselina mléčná, kyselina glykolová atd. Biopolymery mají širokou škálu využití při výrobě ekologicky šetrných bioplastů, biologicky odbouratelných zdravotnických prostředků a biologicky odbouratelných implantátů. Ve vodě rozpustné biopolymery mohou být syntetizovány modifikováním škrobu a celulózy (4). Všeobecně jsou syntetické materiály výhodnější. Mají širokou škálu vlastností, které mohou být

přizpůsobeny pro potřebné účely. Jsou předvídatelnější a dají se ovlivnit lépe než vlastnosti materiálů, které jsou původu přírodního (2). Mezi syntetické biodegradabilní polymery patří materiály jako PLGA, polyanhydridy a jiné látky jako hyaluronan, chitosan a anorganický hydroxyapatit (5).

1.1.2 Syntéza PGA, PLA a jejich využití ve zdravotnictví

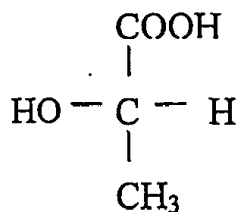
PGA je polymer syntetizovaný z glykolové kyseliny ve dvou krocích. Nejprve probíhá dimerizace a poté následuje polymerace. Stehy z PGA jsou kompletně absorbovány během 4 - 6 měsíců (4).

PLA je amorfní polymer, který má mnohem rychlejší degradační čas, což je výhodnější pro distribuci léčiv. PLA vzniká z kyseliny mléčné kontinuálním procesem a destilační metodou. Rozklad probíhá zejména hydrolýzou. Tenká vrstva z biodegradabilních polymerů pomáhá epitelizaci v dentální aplikaci a hojení po extrakci. Díky velké molekulové hmotnosti je PLA více odolná vůči plísním a jiným mikrobům, nepodléhá tedy mikrobiálnímu rozkladu. Vlákná, která jsou vyrobena z PLA, jsou vhodná pro aplikaci u ortopedických fixací, u stehů a v dentálních aplikacích. PLA může být tepelně zpracována za použití standardní techniky (4).

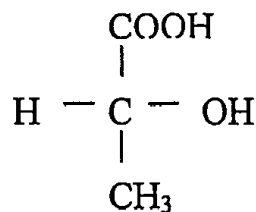
1.1.3 Vlastnosti a použití PLGA

PLGA je kopolymerem kyseliny mléčné a glykolové. Je vhodným biomateriálem, který slouží jako nosič léčiv v jejich distribuci a v tkáňovém inženýrství. PLA obsahuje asymetrický α -uhlík. Jejím enantiomerem je kyselina PDLA a PLLA (5) viz obr. 1.

Obr. 1: Enantiomery kyseliny mléčné (6)



L(+) lactic acid



D(-) lactic acid

Fyzikální a chemické vlastnosti opticky aktivních PDLA a PLLA jsou téměř stejné (5).

Unikátní složení PLGA umožňuje výhodné použití bez nutnosti následného chirurgického zákroku. Výzkum a vývoj se zaměřuje na subkutánně implantovatelný polymerní materiál, který dlouhodobě udrží terapeutickou hladinu léčiv (7). Tento injekční depotní implantát je syntetizován z biologicky odbouratelných polymerů nerozpustných ve vodě, kterým jsou PDLA a PLGA. Po injekci do vodného prostředí voda difunduje do polymerní matrice, což vede k vytvoření pevného implantátu (8). Odborná literatura uvádí velké množství výhod injekčních PLGA implantátů pro dlouhodobé uvolňování. Jedním významným je například rosiglitazon, který se běžně používá při léčbě diabetu (9).

Biologicky odbouratelné injekční depotní formy pro dlouhodobě řízené uvolňování léčiva výrazně zlepšují terapii. Injekční depotní látky jsou typicky zapouzdřeny v PLGA polymeru, který se používá jako resorbovatelný biokompatibilní šicí materiál. PLGA je jedním z mnoha syntetických biomateriálů používaných parenterálně s dlouhodobým uvolňováním léčiva. Tímto způsobem je možné prodloužit účinek například luteinizačního hormonu z jednoho dne až na šest měsíců, čímž dojde k výraznému zlepšení compliance pacienta. Výhodou PLGA polymeru je možnost

trvalého udržení cílové hladiny léčiva po dobu 1 - 3 měsíců po jednom injekčním podání a dodání polypeptidových léčiv k místu účinku. Aby se dosáhlo řízeného uvolňování po dobu 1 - 3 měsíců musí být léčivo enkapsulováno do polymeru. Po aplikaci této látky dochází v lidském těle k složitým fyzikálně chemickým reakcím. Počáteční klinická aplikace implantátů byla zaměřena na hormonální peptidová léčiva a na růstový hormon. Nicméně celá řada léčiv může těžit z dlouhodobého uvolňování. Mezi tato léčiva patří například koagulační faktory, metabolické peptidy, monoklonální protilátky a fragmenty protilátek a enzymů. Výhodou je také distribuce léčiva na specifické místo účinku (10).

Dodání polymerních léčiv do místa účinku může být rozděleno na základě mechanismů uvolňování léčiva:

- Difuzí řízené systémy - difúze nedegradujících polymerů
- Bobtnáním řízené systémy - difúze polymerů, které bobtnají ve vodném prostředí
- Erozí řízené systémy - uvolňování v důsledku degradace a eroze polymerů

Pro biodegradabilní polyestery jako je PLGA platí, že dochází ke kombinaci degradace a eroze polymeru. Transport léčiva do místa účinku je kontrolovaný erozí (10).

1.1.4 Degradace

Degradace je chemický proces označující štěpení vazby (5). Degradace polymerů probíhá hlavně rozštěpením hlavních nebo vedlejších řetězců makromolekul polymerů. V přírodě se polymer rozkládá na základě tepelné aktivace, hydrolýzou, enzymaticky, oxidací, fotolýzou nebo radiolýzou. Odbourávání polymerů mohou dále ovlivnit rozmanité vlastnosti biologické, fyzikální, chemické a samotný mechanismus tohoto procesu. Na degradaci polymerů pomocí mikroorganismů má zásadní vliv zejména vlhkost, teplota, pH, iontová síla, přítomnost kyslíku a dodávka různých živin. Proces degradace také závisí na fyzikálních a biologických vlastnostech, mezi které patří vodivost, pórovitost, rozptýlení částic, morfologická struktura, čistota, chemická

reaktivita, mechanická pružnost, tolerance teploty a odolnost proti elektromagnetické radiaci (11). Polymery s vyšší molekulovou hmotností mají všeobecně nižší stupeň degradace. Molekulová hmotnost má přímý vztah k velikosti větvení polymeru. Polymery s větší molekulovou hmotností mají delší polymerní řetězce a potřebují proto delší čas k úplné degradaci (12). Složení polymeru je nejdůležitějším faktorem k určení hydrofilních vlastností, poměru degradace a distribuce matrice, která ovlivňuje stupeň degradace (13). Procentuální vzrůst kyseliny glykolové v oligomerech zvyšuje úbytek hmotnosti polymeru. Množství kyseliny glykolové je citlivým parametrem k vyladění hydrofilních vlastností matrice, degradace a stupně propouštění. Polyestery odvozené z alifatických α -hydroxykyselin mohou ovlivnit degradační proces změnou uspořádání struktury, zatímco biokompatibilita může být ovlivněna pomocí povrchové modifikace (3).

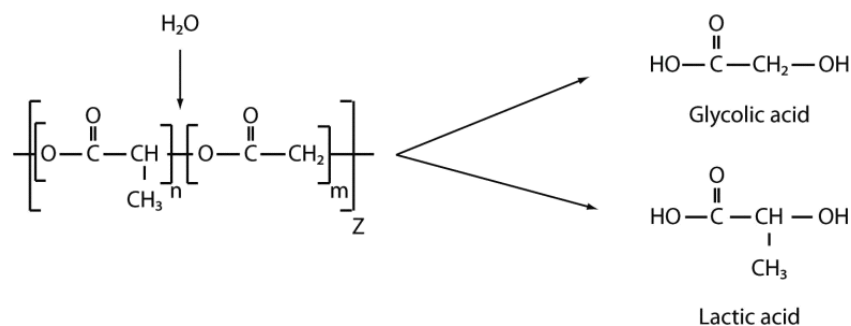
Mechanismus degradace polymerní matrice se mění na základě typu léčiva. Přítomnost konkrétního léčiva ovlivňuje samotný mechanismus degradace, míru degradace i erozi matrice. Poměr plochy k objemu je rovněž podstatným faktorem ovlivňujícím biodegradaci. Větší plocha povrchu než objem vede k větší a rychlejší degradaci. Hydrolýza PLGA v podmínkách in vitro ukázala, že silně kyselé a zásadité prostředí významně urychluje biodegradaci polymeru (14).

PLGA je kopolymer, který degraduje hydrolýzou nebo biodegraduje štěpením esterových vazeb na oligomery a dále na monomery (15). Hydrolýza štěpí esterovou vazbu polymerních řetězců (16). Degradační proces pro tyto polymery je charakterizován uniformní degradací matrice, kde je penetrace vody do matrice větší než stupeň polymerní degradace (15). Důsledkem autokatalýzy stoupá počet karboxylových skupin (3). Existuje mnoho vlivů ovlivňujících degradační proces, ale jejich význam je často nepředvídatelný. Biodegradační potenciál PLGA je závislý na molárním poměru kyseliny mléčné a kyseliny glykolové v polymerním řetězci, na molekulové hmotnosti polymeru, na stupni krystalizace a na teplotě skelného přechodu T_g (15). Enzymatická role v biodegradaci PLGA je nejednoznačná (17). Většina literatury, která se týká biodegradace PLGA, nezahrnuje mezi faktory ovlivňující biodegradaci enzymatickou

aktivitu, ale pouze hydrolýzu. PLGA degraduje primárně hydrolytickou degradací, ale nezanedbatelný vliv může mít v tomto procesu také enzymatická degradace. Kvůli nejednotným výsledkům testů v prostředí in vivo je obtížné srovnat a demonstrovat přínos vybraných enzymů v degračním procesu (18).

Velikost polymerních mikrosfér hraje významnou roli ve spojení mezi degradací, erozí, transportem léčiva a účinkem autokatalýzy (19). PLGA polymer degraduje na mléčnou a glykolovou kyselinu (17), jak je znázorněno na obr. 2.

Obr. 2: Hydrolýza PLGA (20)



Kyselina mléčná dále vstupuje do cyklu karboxylových kyselin a metabolizuje se na oxid uhličitý a vodu (17). Kyselina glykolová je buď metabolizována ledvinami v nezměněném stavu, nebo také vstupuje do cyklu karboxylových kyselin a eliminuje se na oxid uhličitý a vodu. Ideálně by měl být PLGA polymerový systém mechanicky odolný proti fyzikálním vlivům, které mohou ovlivňovat implantáty, poškozovat povrch a působit hydrolyticky (21).

Bylo zjištěno, že degradace PLA je závislá na mnoha faktorech. Významná je závislost na molekulové hmotnosti, krystalinitě, čistotě, teplotě, pH, přítomnosti koncových karboxylových a hydroxylových skupin, propustnosti pro vodu a na obsahu

přísad působících katalyticky, které mohou obsahovat enzymy, bakterie nebo anorganická plniv (11). V roce 2001 vypracoval De Jong studii, která sledovala depolymerizaci PLA přes dimery v alkalickém prostředí. Degradaci konečného řetězce v této studii vysvětluje na základě intramolekulární transesterifikace. Elektrofilní atak, který je katalyzován báží koncové hydroxylové skupiny na sekundárním karbonylu, vedl ke zkrácení polymeru hydrolýzou. Po intramolekulární degradaci v esterové skupině následovala hydrolýza esterů. Takto nově vzniklé molekuly s nižší molekulovou hmotností byly produkovány v kyselém prostředí na základě protonace hydroxylových skupin. Hydrolýza esterové skupiny vedla ke snížení stupně polymerizace PLA (22).

1.1.5 Uvolňování léčiva

Uvolňování léčiv je definováno časem, který je potřebný k uvolnění 100 % látky. Parametry uvolňování léčiva se mění na základě typu léčiva a jsou definovány množstvím OH skupin, hydrofilními vlastnostmi a rozpustností ve vodě. Nutností je, znát vlastnosti léčiva, abychom mohli vysvětlit mechanismus uvolňování léčiva (14). Molekuly léčiva musí být nejprve rozpuštěny ve vodném prostředí a musí být volně rozptýleny, než mohou působit na cílových receptorech. Polymer zajišťuje řízené uvolňování léčiva tím, že chrání molekuly léčiva před předčasným uvolněním, rozpuštěním nebo kontroluje osmotickou propustnost (5). Počáteční rozpustnost léčiv závisí na typu léčiva, na koncentraci léčiva a hydrofobních vlastnostech polymeru. Léčivo je v kontaktu s médiem a je uvolňováno, jak na základě rozpustnosti, ale také na základě penetrace vody do polymerní matrice. Rozštěpením PLGA se snižuje celková molekulová hmotnost polymeru, dochází k progresivnější difuzi léčiva, ale k reálnému snížení hmotnosti a rozpustnosti monomeru nedojde. Voda uvnitř matrice hydrolyzuje polymer na solubilní oligomer a dále na monomery. Tím dojde k prostupu léčiv, která difundují, a tím dochází k erozi až do úplného rozpuštění polymeru. V tomto procesu hraje významnou roli typ léčiva (3). Počáteční uvolňování léčiva, které se vyskytuje například u některých mikrosfér PLGA, může být vhodnou technikou sníženo nebo eliminováno. Následné řízené uvolňování z PLGA mikrosfér závisí na transportních

vlastnostech léčiva a dynamických podmínkách degradujícího polymeru. Léčivo zabudované do mikrosfér PLGA se může uvolnit pomocí difúze z polymerní matrice nebo difuzí přes vodní póry a rozpouštěním totožným s polymerním rozpouštěním (23). Difuzi léčiv přes PLGA matrici a přes vodní póry lze považovat za paralelní způsoby uvolňování léčiva. Ve vodě rozpustná léčiva procházejí snadněji přes vodní póry než polymerní strukturou, takže efektivní difúze léčiva vzrůstá dle vývoje sítě pórů. Jakmile dojde k rozšíření pórů tak, že jsou větší než molekuly léčiva, dojde k výrazně rychlejší dopravě léčiva do cílových tkání (24). Uvolňování léčiva je závislé na počáteční dynamice tohoto procesu, difúzi polymerní matrice, velikosti pórů, stupni degradace a na erozi (23). K difúzi kyselých degradačních produktů může dojít rychleji z důvodu potlačení heterogenity ve vnitřním pH v malých porézních mikrosférách a z důvodu eroze v důsledku autokatalýzy (25). Rychlost uvolňování léčiva za těchto podmínek je řízená difúzí. Relativně menší mikrosféry uvolňují léčivo rychleji, protože jsou difúzní dráhy kratší a koncentrační gradienty větší (19). Množství léčiva má velký vliv na stupeň propustnosti léčiv. Matrice s vyšším obsahem léčiva má větší počáteční stupeň propustnosti než matrice s menším obsahem léčiva, kvůli poměru menších molekul polymeru a léčiv (26).

1.1.6 Eroze

Eroze polymeru je fyzikální jev, který je závislý na degradaci, disoluci a difúzním procesu (5). Existuje několik typů eroze, povrchová, celkově rozrušující a heterogenní eroze. V prvním případě dochází k povrchovému narušení polymerů například jako u polyanhydridů. Je rychlejší než rychlost penetrace vody z tělních tekutin in vivo nebo z vyrovnávacího media in vitro. K povrchové erozi dochází od povrchu směrem dovnitř. V druhém případě dochází k hromadné erozi celého polymeru, například u PLGA (27). PLGA může ale někdy podléhat i heterogenní erozi, kde vnitřek tělesa degraduje rychleji než okrajová část polymeru. Tento fenomén je závislý na velikosti objektu. U mikrosfér a tlustších desek byla pozorována rychlejší eroze v jejich středech než u menších mikrosfér a slabšího filmu (28). Rovněž byla

pozorována vzrůstající intenzita difúze se vzrůstajícím průměrem tělesa. Příčina heterogenní ztráty hmoty je u objemově erodujících polymerů obecně připisována kombinovanému účinku autokatalytické degradace a omezenému transportu (29).

Společný mechanismus degradace a eroze se u PLGA skládá ze tří fází. V první fázi je pevný polymer hydratovaný a degradační proces probíhá převážně nekatalytickou hydrolýzou homogenně v celém objemu polymeru, zatímco je koncentrace koncových karboxylových kyselých zbytků polymerních řetězců nízká. Ve druhé fázi, kdy je koncentrace katalyzátoru významná, se stává důležitou autokatalytická hydrolytická reakce. Třetí fáze zahrnuje rozpouštění oligomerů na monomery do vodného prostředí. Pokud se rozpustí více oligomerů v pórech, nastane výrazná ztráta hmoty polymerů (23).

1.1.7 Mechanismus bobtnání

Mechanismus cyklického bobtnání a odbobtnání alifatických polyesterů a oligoesterů ve vodném mediu byl prokázán na základě míry shody v čase a v T_g . Dále na základě shody koncentrace karboxylových skupin v matrici a koncentrace ve vodě rozpustné frakci oligoesterů. Díky narůstající koncentraci hydrofilních koncových skupin vzniklých hydrolýzou esterových vazeb během bobtnání se zvyšuje osmotická aktivita. Fáze bobtnání, která trvá po dobu několika hodin či dnů, je následována fází odbobtnání. To je způsobeno poklesem osmotického tlaku v tělese polymeru po poklesu koncentrace malých, ve vodě rozpustných molekul v důsledku přechodu ze struktury gelu do kapalného média. Částečný kolaps gelu je zapříčiněn interakcí hydrofobních řetězců po snížení hydrofilního charakteru struktury. Bylo prokázáno, že intenzitu pulsů a jejich četnost ovlivňuje molekulová hmotnost polyesterů, složení molekul, velikost tělíska, teplota a složení kapalného média (30).

1.2 Využití polymerních materiálů při hojení ran

Hojení poranění je komplexní a dynamický proces, který je zprostředkováván mnohými efektivními iniciátory během léčebných procesů, jako jsou cytokininy, makrofágy a fibroblasty. Současný výzkum se zaměřuje na vývoj takzvaných chytrých polymerních materiálů. Kombinace různých biopolymerů důležitých pro hojení přináší příležitosti k syntéze matric, které indukují a stimulují cílové buňky odpovědné za tento proces (31). Zejména slibné jsou materiály, které zvyšují regeneraci tkáně a příznivým způsobem ovlivňují a urychlují proces hojení (32). Velký význam má propustnost materiálu pro kyslík, který je zásadní živinou pro metabolismus buněk. Prostředí bez kyslíku zpomaluje hojení následkem snížení granulačních a epitelizačních procesů. Proto je nutné zachovat výměnu plynů a prodyšnost (33). S ohledem na změny v rychlosti vzniku výměšků a rozdílů ve vzhledu povrchu rány je třeba vyvinout takovou lékovou formu, která má pozitivní vliv na hojení všech typů poškození kůže. S rozvojem tkáňového inženýrství mohou být jednotlivé terapeutické postupy směřovány k cílovým typům ran, a tím může být zajištěna efektivní léčba. Kromě toho je důležitý vývoj nových polymerů, které mohou být upraveny tak, aby se jejich struktura podobala kůži. Dále může pomoci podpořit optimální léčbu začlenění aktivního růstového faktoru. Takovéto pokročilé přístupy mohou významně pomoci při léčbě akutních a chronických poranění klinicky účinným způsobem (31). Výzkum v oblasti tkáňového inženýrství se zaměřuje na přenos léčiva do cílových buněk. Díky němu byl vytvořen nový potenciál k zlepšení pohodlí pacienta a k rychlejšímu uzdravení (32).

Úspěšná péče o pacienta má zajišťovat redukci nekrotizace tkáně a prevenci mikrobiálního napadení. V minulosti byly používány jednoduché gázy a obvazy, které příliš nepomáhaly hojícímu procesu. V posledních letech se dbá na zajištění farmakologických, mechanických a farmakokinetických požadavků pro uzdravovací proces. Snaží se odstranit bariéry bránící přirozenému hojícímu procesu a zlepšuje se efekt pokročilé terapie (34). Schopnost obnovy kůže při malém zranění je mimořádná. Při postižení rozsáhlejších částí je vhodné krytí neodmyslitelnou ochranou. Díky

optimálnímu složení pro konkrétní poranění je významně urychlen hojící proces. Cílem péče o poranění je krytí, které může chránit proti celkové mikrobiální kontaminaci (35). Rovněž očištění rány hraje rozhodující roli v době léčení, jelikož odumřelá tkáň poskytuje ohnisko pro infekci, zabraňuje reepitelizaci, prodlužuje fázi zánětů a mechanicky brání stažení vnějších stran rány (36).

1.2.1 Rozdělení polymerních materiálů

Materiály jsou obvykle klasifikovány jako pasívní, interaktivní a bioaktivní produkty. Gáza a jiné tradiční obvazy jako například tyl, jsou pasívními produkty. Polymerní fólie a pěny, které jsou průhledné, prodyšné pro vodní páru a kyslík a v některých případech biodegradabilní, jsou označovány jako interaktivní produkty. Bioaktivní produkty mají schopnost transportovat aktivní složky k místu poranění podle druhu obvazu složeného z materiálu, který má endogenní aktivitu, nebo dodávají aktivní částice. Tyto výrobky zahrnují kolagen, proteoglykan, chitosan a algináty (37).

Dále můžeme materiály pro krytí ran rozdělit na přírodní, syntetické a smíšené. Nevýhodám spojeným s používáním přírodních polymerů, jako je například vysoká míra biodegradability, může být předcházeno modifikací se syntetickými polymery. Kombinací polymerů dojde k interakci obou typů, která se projeví výhodami. Přírodní polymery jako chitosan, kolagen nebo želatina mohou být použity k výrobě obvazů na rány. Disponují vlastnostmi, mezi které patří biokompatibilita, bioaktivita, bioadhezivita a biodegradabilní rozložení na netoxické produkty (38).

Syntetické polymery disponují velkým množstvím výhod. Hlavním přínosem je kontrolovaná syntéza a modifikace v souladu se specifickými požadavky potřebnými ke stálým fyzikálním a chemickým vlastnostem, tak i ke stabilitě. Na druhou stranu jsou biologicky netečné a nenabízí terapeutické výhody. Běžně používané syntetické materiály na obvazový materiál zahrnují PVA. Polyvinylalkohol poskytuje výborné absorpční schopnosti vody, mukoadhesivní vlastnosti a propustnost kyslíku (39). Mezi běžně používané syntetické polymery patří rovněž polyethylenoxid a polyethylenglykol,

které jsou účelně využívány v procesu hojení jako netoxické, biokompatibilní, hydrofilní, flexibilní biomateriály a mohou být použity k inkorporaci mediátorů, jako jsou růstové faktory pomáhající hojícímu procesu (40). K regeneraci tkání a hojení ran mohou být později prosazovány jiné syntetické polymery jako například polykaprolakton, který je biodegradabilní, kompatibilní a zkracuje zánětlivý proces. Dále mohou být použity materiály, jako jsou polyuretan, kyselina polymléčná, polyvinylpyrolidon, kyselina polyglykolová a PLGA (41).

1.2.2 Tradiční krytí ran

Mezi tradiční krytí ran patří bavlna, přírodní a syntetické obvazy a gázy, které dobře absorbují výměšky a působí jako fyzikální protekce. Tato krytí jsou suchá a neposkytují výhodné vlhké prostředí. Mají specifickou funkci se spojit s jinými krytími, jako jsou hydrogely a koloidy, kde každá část krytí hraje významnou roli v procesu hojení ran. Tradiční krycí materiály jsou funkční jako primární i sekundární krytí. Tyto tradiční materiály byly z velké části nahrazeny moderními technologiemi a výhodnými materiály se schopností tvorby vlhkého prostředí. Se schopností zabezpečit výměnu plynů a prevenci bakteriální kontaminace a kolonizace, stejně jako prevenci máčení rány a akumulaci výměšků. Tradiční krycí materiály jako bavlna, vlna a gáza mají tendenci přilnout na stranu rány tak, jak klesá vlhkost. Důsledkem je obtížné a bolestivé odstranění. Gáza umožňuje odpařování, a tím je způsobena dehydratace rány, která zapříčiňuje zpomalené hojení (33).

1.2.3 Biokompatibilita polymerních materiálů

Materiál vhodný pro péči o ránu musí splňovat specifické požadavky. Nejdůležitější vlastností je biokompatibilita materiálu. Vhodná substance musí být kompatibilní s hostitelským organismem a musí podporovat hojící proces. Současný výzkum navrhuje včlenění bioaktivních materiálů. Na rozdíl od inertních materiálů, bioaktivní materiál může komunikovat s biologickým prostředím a ovlivnit funkčnost

buněk. Mohou být použity různorodé materiály, které mohou být klasifikovány na přírodní, syntetické a smíšené. (42).

1.2.4 Interpolymerní komplexy

Neobvyklá kombinace polymerů může být používána jako konstrukce pro hojení ran a fólie, které vylepšují mechanické, biologické a chemické charakteristiky pomocí mísení polymerů přírodního původu s polymery syntetickými a biodegradabilními (43). Současná věda věnuje pozornost specifickému výzkumu a speciálním biodegradabilním materiálům pro konkrétní aplikaci s neobvyklými vstřebatelnými biomateriály pomocí kombinovaných přístupů (44). Vhodné je použití polyelektrolytového komplexu jako obvazového materiálu, neboť obsahuje chitosan a γ -PGA. Tento kombinovaný obvazový materiál má dobré mechanické vlastnosti, vhodný obsah vlhkosti a po odstranění nedojde k poškození regenerované tkáně (39).

1.2.5 Hydrokoloidy

Hydrokoloidy jsou získávány z koloidních materiálů. Mezi koloidní materiály patří látky tvořící gel, které jsou kombinovány s látkami, kterými jsou elastomery, želatina, pektin, karboxymethylcelulosa, a dále jsou kombinovány s adhezivními materiály. Hydrokoloidy jsou užitečné v klinickém použití, protože dobře přilnou jak k mokré, tak k suché ploše (33). Jsou prakticky neprostupné pro vodní páry a vzduch, protože obsahují okluzivní vnější plášť, který zabraňuje výměně vodní páry a vzduchu mezi ránou a okolím, ačkoliv jsou ve formě gelu více propustné pro vzduch. Jsou vhodné na rány, které produkují velké množství výměšky, jelikož tvoří měkký a soudržný gel z původního suchého krytí (45).

1.2.6 Bioaktivní látky a léčiva

Aktuální pomůcky pro péči o rány jsou navrženy tak, aby překonaly strukturální i fyziologické nerovnováhy a udržovaly homeostatické prostředí v okolí rány. Nebývalý

komplex biodegradabilních systémů může být upraven včleněním mnohých aktivních sloučenin, které ulehčují stanovení homeostatického prostředí. Mezi tyto sloučeniny patří antibiotika, protizánětlivé látky, antiseptika, protilátky a jiné bioaktivní látky (46).

1.2.7 Lyofilizované destičky

Lyofilizované destičky mají potenciál pro podání léčiv na hnisající rány. Mohou být přiloženy přímo na ránu, neboť mají schopnost absorbovat velké množství tekutiny. Mrazové leptání polymerních roztoků nebo gelů poskytuje pevnou pórovitou strukturu, která může zahrnovat léčiva, která podporují hojení ran a umožní distribuci na povrch rány (47).

1.2.8 Hydrogely

Hydrogely jsou používány jako základní materiál od roku 1989. Od té doby byly modifikováním zlepšeny jak fyzikální, tak chemické vlastnosti. Hydrogely jsou hydrofilním, nerozpustným a bobtnajícím krytím. Jsou nejčastěji složeny ze syntetických polymerů, kterými jsou polyvinylpyrolidon a metakrylát. Hydrogely obsahují vodu v 80 % až 90 %, což umožňuje zajistit vlhké prostředí a dostatečnou vlhkost na povrchu rány. Nejsou ale schopné absorbovat příliš mnoho výměšků, a jsou tudíž nevhodné na rány produkující velké množství exudátu. Malá absorpce a akumulace tekutiny může způsobit maceraci kůže, což může vést k bakteriální proliferaci a zápachu. Proto je vhodné zajistit sekundární krytí. Jedním z hlavních problémů spojených s aplikací hydrogelů je nízká mechanická pevnost. Plastifikační účinek vody je hlavní příčinou jejich špatné odolnosti proti roztržení a snadné mechanické deformaci (48).

1.2.9 Fólie pro hojení ran

Fólie jsou používány na povrchová zranění a poranění s malým množstvím výměšku. Díky jejich semipermeabilitě pomáhají udržet vlhké prostředí pomocí zachycení vlhkosti na straně rány, usnadňují buněčnou migraci a podporují autolýzu nekrotické tkáně. Nevýhodou těchto krytí je, že neabsorbují exudáty a vytváří příznivé prostředí pro kontaminaci bakteriemi. Také dochází k omezené výměně vodní páry a plynů, což má za následek prodloužení hojícího procesu. Jsou průhledné a mohou být modifikovány, což je činí propustnými pro vlhké vodní páry a zároveň vodotěsnými. (49). Semipermeabilní fólie jsou vyrobeny z různých polymerů, biomateriálů, kopolymerů a blokových plastifikovaných polymerů. Jsou modifikovány tak, aby vyhovovaly účelu semipermeability a umožňovaly prostup plynů a vlhkosti. Často jsou přidruženy k jiným krytím jako například k hydrogelu, složenému krytí, pěnám a hydrokoloidům (31).

2 Praktická část

2.1 Experimentální část

Použité přístroje

- Analytické digitální váhy, Kern ABS (max. 220 g, d= 0,1 mg)
- Digitální váhy Kern (max. 8100 g, d = 5 g)
- Vakuová sušárna, Binder
- Horkovzdušná sušárna, HSPT.200, Memmert
- Biologický termostat, BT 1200 Laboratorní přístroje Praha
- pH metr, HI 221 Microprocessor pH Meter
- Elektromagnetická míchačka Hidolph MR 3001

Použité chemikálie

- Polymerní nosič odvozený od kyseliny DL - mléčné a kyseliny glykolové větvený na centrální molekule mannitolu syntetizovaný na katedře farmaceutické technologie FAF UK, který má následující parametry.
 - označení: M3
 - složení: GA:LA:M / 48,5:48,5:3
 - M_n : 2600 [g/mol]
 - M_w : 3800 [g/mol]
 - M_w/M_n : 1,46
 - T_g : 23,7 [°C]
 - g' : 1,08
- Hydrogenfosforečnan sodný
- Dihydrogenfosforečnan sodný
- Chlorid sodný
- Čištěná voda, FAF UK

2.1.1 Příprava polymerní matrice

Kádinka s potřebným množstvím polymeru byla vložena do olejové lázně. Abychom předešli vzniku vzduchových bublin, měknoucí polymer nebyl míchán. Rozměknutý polymer byl pomocí injekční stříkačky natažen do silikonové hadičky. Tato silikonová hadička byla položena do vodorovné polohy, aby vychladla a byl získán rovný váleček sklovitého polymeru. Po ztuhnutí byla silikonová hadička rozříznuta pomocí žiletky podélně a polymer byl vyjmut. Práce s polymerem byla vzhledem k hygroskopickým vlastnostem polymeru provedena v rukavicích. Polymer ve tvaru válečku byl nařezán na části cca 0,8 cm pomocí žiletky. Výsledná hmotnost jednotlivé matrice byla 150 mg \pm 5 %. Hmotnostní interval se pohyboval v rozmezí 142,5 až 157,5 včetně. V případě vyšší hmotnosti matrice byla hmotnost upravena pomocí smirkového papíru.

2.1.2 Příprava pufru

Fosfátový pufr byl připraven smísením roztoků hydrogenfosforečnanu sodného a dihydrogenfosforečnanu sodného. Tyto roztoky byly smíseny v poměru 40 ml roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného a 60 ml roztoku hydrogenfosforečnanu sodného pro přípravu 100 ml pufru, abychom dosáhli požadovaného pH. Navážka dihydrogenfosforečnanu pro přípravu jeho roztoku byla 10,4 g pro 1000 ml roztoku a navážka hydrogenfosforečnanu sodného pro přípravu 1000 ml roztoku byla 23,9 g. Bylo třeba přidat 0,46 g chloridu sodného na 100 ml pufru, aby byl roztok izotonický. Byly připraveny koncentrace $c = 1,0$; $c = 2,0$ a ředěním byly připraveny hypotonické pufrы $c = 0,5$, $c = 0,63$, $c = 0,25$ a $c = 0,125$. Ověření hodnoty pH pufru bylo provedeno pomocí pH metru. Hodnota pH připraveného pufru byla 7,0. Současně bylo provedeno stanovení stupně bobtnání a stupně eroze v čisté vodě. Tyto lahvičky byly označeny koncentrací $c = 0$.

2.1.3 Testování matrice

Polymerní matrice byla zvážena na analytických vahách a poté byla vložena do vytárované lahvičky. Lahvičky byly označeny štítky označující den, současné stanovení A či B a koncentraci pufru. Lahvičky byly opět zváženy na analytických vahách. K tělískům byl nalit příslušně koncentrovaný pufr, případně čištěná voda. Vzorky byly umístěny do vytemperovaného biologického termostatu, který byl nastaven na teplotu 37 °C. Odebírání vzorků probíhalo v intervalu 1, 3, 7, 14 a 21 dní.

2.1.4 Stanovení stupně bobtnání a eroze

Při odebírání vzorků byl vylit pufr a lahvička byla vysušena nejprve pomocí vatové tyčinky a poté pomocí vysoušeče vlasů. Veškerá kapalina z lahvičky byla vysušena, ale nedošlo k vysušení polymeru. Lahvička s polymerní matricí byla zvážena na analytických vahách. Poté byly lahvičky umístěny do vakuové sušárny a po týdnu sušení byly lahvičky s vysušeným tělískem znovu zváženy na analytických vahách. Ze zjištěných hodnot byly vypočítány stupně bobtnání a stupně eroze.

Stupeň bobtnání

- $B = m_b - m_s / m_s * 100$
- B = stupeň bobtnání (%)
- m_b = hmotnost zbobtnalé matrice (g)
- m_s = hmotnost matrice po vysušení (g)

Stupeň eroze

- $E = (1 - m_0 - m_s / m_0) * 100$
- E = stupeň eroze (%)
- m_0 = počáteční hmotnost matrice (g)
- m_s = hmotnost matrice po vysušení (g)

3 Výsledky – tabulky a obrázky

3.1 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – tabulky. 1. měření

Tab. 1: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 1 a 2)

Dny	označení vzorků	m _L	m ₀	m _{LB}	m _b	m _{LS}	m _s	B	E
1	0/1/A	13,8257	0,1562	13,9819	0,1745	13,9617	0,1543	13,0914	98,7836
3	0/3/A	13,6329	0,1522	13,7851	0,1693	13,7600	0,1442	17,4064	94,7438
7	0/7/A	13,3528	0,1564	13,5092	0,1249	13,4892	0,1049	19,0658	67,0716
14	0/14/A	14,5013	0,1543	14,6556	0,0492	14,6464	0,0400	23,0000	25,9235
21	0/21/A	14,4167	0,1472	14,5639	0,9313	14,5548	0,6963	33,7498	473,0299

Dny	označení vzorků	m _L	m ₀	m _{LB}	m _b	m _{LS}	m _s	B	E
1	0/1/B	13,8317	0,1519	13,9836	0,1888	13,9433	0,1485	27,1380	97,7617
3	0/3/B	13,7926	0,1517	13,9443	0,1739	13,9164	0,1460	19,1096	96,2426
7	0/7/B	13,5041	0,1451	13,6492	0,1262	13,6262	0,1032	22,2868	71,1234
14	0/14/B	14,7255	0,1570	14,8825	0,0553	14,8714	0,0442	25,1131	28,1529
21	0/21/B	13,7124	0,1563	13,8687	0,0102	13,8655	0,0070	45,7143	4,4786

Tab. 2: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 1 a 2)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	13,0914	17,4064	19,0658	25,5000	33,7498
B	27,1381	19,1096	22,2868	25,1131	45,7142
průměr	20,1148	18,2580	20,6763	25,3066	39,7321

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	98,7836	94,7438	67,0716	25,9235	6,0299
B	97,7617	96,2426	71,1234	28,1529	4,4786
průměr	98,2726	95,4932	69,0975	27,0382	5,2542

Tab. 3: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,125$ při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 3 a 4)

Dny	označení vzorků	m_L	m₀	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,125/1/A	13,5940	0,1532	13,8424	0,2484	13,7412	0,1472	68,7500	96,0836
3	0,125/3/A	13,6486	0,1553	14,0334	0,3848	13,7892	0,1406	173,6842	90,5344
7	0,125/7/A	13,6864	0,1527	13,8823	0,1959	13,7877	0,1013	93,3860	66,3392
14	0,125/14/A	13,7548	0,1522	13,8099	0,0551	13,7955	0,0407	35,3808	26,7411
21	0,125/21/A	13,6603	0,1439	13,7182	0,0579	13,6778	0,0175	230,8571	12,1612

Dny	označení vzorků	m_L	m₀	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,125/1/B	13,4524	0,1432	13,7015	0,2491	13,5935	0,1411	76,5415	98,5335
3	0,125/3/B	13,7912	0,1475	14,2077	0,4165	13,9244	0,1332	212,6877	90,3051
7	0,125/7/B	13,5947	0,1495	13,7520	0,1573	13,6936	0,0989	59,0495	66,1538
14	0,125/14/B	13,4693	0,1566	13,5347	0,0654	13,5137	0,0444	47,2973	28,3525
21	0,125/21/B	13,5963	0,1483	13,6501	0,0538	13,6173	0,0210	156,1905	14,1605

Tab. 4: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,125$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 3 a 4)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	68,7500	173,6842	93,3860	35,3808	154,5455
B	76,5415	212,6877	59,0495	47,2973	142,0455
průměr	72,6457	193,1859	76,2178	41,3391	148,2955

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	96,0836	90,5344	93,3860	35,3808	0,7503
B	98,5335	90,3051	59,0495	47,2973	12,0879
průměr	97,3085	90,4198	76,2178	41,3391	6,4191

Tab. 5: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,25$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 5 a 6)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,25/1/A	13,6530	0,1551	13,8081	0,1978	13,7415	0,1312	50,7622	84,5906
3	0,25/3/A	13,5571	0,1490	13,7061	0,1750	13,6360	0,1049	66,8255	69,0586
7	0,25/7/A	14,2295	0,1435	14,3730	0,1512	14,3096	0,0878	72,2096	56,2821
14	0,25/14/A	15,2268	0,1518	15,3786	0,1062	15,3125	0,0401	164,8379	26,4163
21	0,25/21/A	13,5458	0,1503	13,6961	0,0626	13,6529	0,0194	222,6804	12,9075

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,25/1/B	13,8751	0,1463	14,0214	0,1935	13,9514	0,1235	56,6802	84,4156
3	0,25/3/B	13,6170	0,1538	13,7708	0,1740	13,7036	0,1068	62,9213	69,4408
7	0,25/7/B	13,5631	0,1548	13,7179	0,1570	13,6480	0,0871	80,2526	56,2661
14	0,25/14/B	13,6529	0,1517	13,8046	0,0967	13,7435	0,0356	171,6292	23,4674
21	0,25/21/B	13,6861	0,1559	13,8420	0,0474	13,8079	0,0133	256,3910	8,5311

Tab. 6: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,25$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu

1. - 21. dne. (Obr. 5 a 6)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	50,7622	66,8255	155,3763	164,8379	274,2268
B	56,8602	62,9213	187,3134	171,6292	301,5038
Průměr	53,8112	64,8734	171,3449	168,2336	287,8653

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	84,5905	69,0585	56,2820	26,4163	12,9075
B	84,4155	69,4408	56,2661	23,4673	8,5311
Průměr	84,5030	69,2497	56,2741	24,9418	10,7191

Tab. 7: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,375$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 7 a 8)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,375/1/A	13,7534	0,1489	14,0102	0,2568	13,8958	0,1424	80,3371	95,6347
3	0,375/3/A	13,5322	0,1572	13,8614	0,3292	13,6665	0,1343	145,1229	85,4326
7	0,375/7/A	13,8225	0,1549	13,9692	0,1467	13,9241	0,1016	44,3898	65,5907
14	0,375/14/A	13,7143	0,1462	13,7739	0,0596	13,7545	0,0402	48,2587	27,4966
21	0,375/21/A	14,8493	0,1534	14,8938	0,0445	14,8671	0,0178	150,0000	11,6037

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,375/1/B	13,4319	0,1521	13,6608	0,2289	13,5776	0,1457	57,1036	95,7922
3	0,375/3/B	13,7803	0,1555	14,1190	0,3387	13,9122	0,1319	156,7854	84,8232
7	0,375/7/B	13,8041	0,1578	13,9937	0,1896	13,9079	0,1038	82,6590	65,7795
14	0,375/14/B	13,5760	0,1542	13,6638	0,0878	13,6192	0,0432	103,2407	28,0156
21	0,375/21/B	13,8122	0,1429	13,8122	0,0626	13,7658	0,0162	286,4198	22,5464

Tab. 8: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,375$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 7 a 8)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	80,33708	145,1229	44,38976	48,25871	274,2268
B	57,10364	156,7854	82,65896	103,2407	301,5038
Průměr	68,72036	150,9542	63,52436	75,74972	287,8653

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	95,63465	85,43257	65,5907	27,49658	12,90752
B	95,79224	84,82315	65,77947	28,01556	8,53111
Průměr	95,71345	85,12786	65,68509	27,75607	10,71931

Tab. 9: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,5$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 9 a 10)

Dny	označení vzorků	m_L	m₀	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,5/1/A	13,7111	0,1581	13,8692	0,1339	13,8326	0,0973	37,6156	61,5433
3	0,5/3/A	13,5413	0,1470	13,6883	0,0618	13,6585	0,0320	93,1250	21,7687
7	0,5/7/A	13,1885	0,1450	13,3335	0,0404	13,3107	0,0176	129,5455	12,1379
14	0,5/14/A	13,7853	0,1480	13,9333	0,0475	13,9044	0,0186	155,3763	12,5676
21	0,5/21/A	13,5014	0,1466	13,6480	0,0028	13,6463	0,0011	154,5455	0,7503

Dny	označení vzorků	m_L	m₀	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,5/1/B	13,8090	0,1562	13,9652	0,1355	13,9264	0,0967	40,1241	61,9078
3	0,5/3/B	13,4432	0,1490	13,5922	0,0568	13,5631	0,0277	105,0542	18,5906
7	0,5/7/B	14,5684	0,1435	14,7119	0,0436	14,6879	0,0196	122,4490	13,6585
14	0,5/14/B	13,5098	0,1495	13,6593	0,0385	13,6342	0,0134	187,3134	8,9632
21	0,5/21/B	13,7526	0,1456	13,8982	0,0426	13,8732	0,0176	142,0455	12,0879

Tab. 10: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,5$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu

1. - 21. dne. (Obr. 9 a 10)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	37,5165	93,1250	129,5455	155,3763	154,5455
B	40,1241	105,0542	122,4490	187,3134	142,0455
Průměr	38,8203	99,0895	125,9972	171,3449	148,2955

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	61,5433	21,7687	12,1379	12,5675	0,7503
B	61,9078	18,5906	13,6585	8,96321	12,0879
Průměr	61,7255	20,1796	12,8982	10,7653	6,4191

Tab. 11: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 1,0$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 11 a 12)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,1/1/A	13,5298	0,1569	13,7681	0,2383	13,6691	0,1393	71,0696	88,7827
3	0,1/3/A	13,5675	0,1469	13,8832	0,3157	13,6955	0,1280	146,6406	87,1341
7	0,1/7/A	13,8380	0,1479	14,1643	0,3263	13,9340	0,0960	239,8958	64,9087
14	0,1/14/A	13,8585	0,1594	14,0091	0,1506	13,9187	0,0602	150,1661	37,7666
21	0,1/21/A	13,6010	0,1448	13,7248	0,1238	13,6534	0,0524	136,2595	36,1878

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,1/1/B	13,8085	0,1483	14,0287	0,2202	13,9479	0,1394	57,9627	93,9987
3	0,1/3/B	13,8602	0,1472	14,1747	0,3145	13,9890	0,1288	144,1770	87,5000
7	0,1/7/B	13,6136	0,1470	13,9478	0,3342	13,7095	0,0959	248,4880	65,2381
14	0,1/14/B	13,5650	0,1444	13,6945	0,1295	13,6193	0,0543	138,4899	37,6039
21	0,1/21/B	13,7738	0,1508	13,8522	0,0784	13,8078	0,0340	130,5882	22,5464

Tab. 12: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 1,0$ při 37 °C v průběhu

1. - 21. dne. (Obr. 11 a 12)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	71,0696	146,6406	239,8958	150,1661	136,2595
B	57,9627	144,1770	248,4880	138,4899	130,5882
Průměr	64,5162	145,4088	244,1919	144,3280	133,4239

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	88,7827	87,1341	64,9087	37,7666	36,1878
B	93,9987	87,5000	65,2381	37,6039	22,5464
Průměr	91,3907	87,3171	65,0734	37,6853	29,3671

3.2 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – tabulky, 2. měření.

Tab. 13: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 13 a 14)

Dny	označení vzorků	m _L	m ₀	m _{LB}	m _b	m _{LS}	m _s	B	E
1	0/1/A	13,6388	0,1571	13,7959	0,1705	13,7815	0,1561	9,2249	99,3635
3	0/3/A	13,8004	0,1464	13,9468	0,1806	13,9032	0,1370	31,8248	93,5792
7	0/7/A	13,6843	0,1530	13,8373	0,1403	13,8101	0,1131	24,0495	73,9216
14	0/14/A	13,6427	0,1498	13,7925	0,0592	13,7839	0,0506	16,9960	33,7784
21	0/21/A	13,4700	0,1436	13,6136	0,0138	13,6100	0,0102	35,2941	7,1031

Dny	označení vzorků	m _L	m ₀	m _{LB}	m _b	m _{LS}	m _s	B	E
1	0/1/B	13,7120	0,1565	13,8685	0,1670	13,8567	0,1552	7,6031	99,1693
3	0/3/B	14,9630	0,1564	15,1194	0,1838	15,0844	0,1488	23,5215	95,1407
7	0/7/B	15,5283	0,1513	15,6796	0,1116	15,6764	0,1084	2,9520	71,6457
14	0/14/B	14,4595	0,1555	14,6150	0,0495	14,6023	0,0368	34,5109	23,6656
21	0/21/B	13,4791	0,1410	13,6201	0,0022	13,6199	0,0020	10,0000	1,4184

Tab. 14: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 13 a 14)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	7,5710	13,5849	10,3524	16,9960	15,6863
B	5,8973	8,8463	2,8858	1,2249	10,0000
Průměr	6,7341	11,2156	6,6191	9,1105	12,8431

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	99,3635	93,5792	73,9216	33,7784	7,1031
B	99,1693	95,1407	71,6457	23,6656	1,4184
Průměr	99,2664	94,3599	72,7837	28,7220	4,2608

Tab. 15: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 15 a 16)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,125/1/A	13,4194	0,2164	13,6358	0,3217	13,5142	0,2001	60,7696	92,4677
3	0,125/3/A	13,4338	0,1556	13,5894	0,2233	13,4689	0,1028	117,2179	66,0668
7	0,125/7/A	13,4790	0,1525	13,6315	0,0662	13,6139	0,0486	36,2140	31,8689
14	0,125/14/A	15,2957	0,1516	15,4473	0,0284	15,4429	0,0240	18,3333	15,8311
21	0,125/21/A	13,7434	0,1578	13,9012	0,0518	13,8831	0,0337	53,7092	21,3561

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,125/1/B	13,8751	0,1537	14,0288	0,2247	13,9479	0,1438	56,2587	93,5589
3	0,125/3/B	13,4330	0,1564	13,5894	0,2233	13,4689	0,1028	117,2179	66,0668
7	0,125/7/B	13,6782	0,1564	13,8346	0,0671	13,8153	0,0478	40,3766	30,5627
14	0,125/14/B	13,2631	0,1520	13,4151	0,0546	13,4011	0,0406	34,4828	26,7105
21	0,125/21/B	13,6883	0,1518	13,8401	0,0439	13,8290	0,0328	33,8415	21,6074

Tab. 16: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,125$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 15 a 16)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	60,7696	117,2179	36,2140	18,3333	53,7092
B	56,2587	122,6776	40,3766	34,4828	33,8415
Průměr	58,5142	119,9477	38,2953	26,4080	43,7753

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	92,4677	66,0668	31,8689	15,8311	21,3561
B	93,5589	70,2046	30,5627	26,7105	21,6074
Průměr	93,0133	68,1357	31,2158	21,2708	21,4818

Tab. 17: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 17 a 18)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,250/1/A	15,3192	0,1510	15,4702	0,1565	15,4452	0,1315	19,0114	87,0861
3	0,250/3/A	13,7312	0,1454	13,8766	0,2482	13,7416	0,1132	119,2580	77,8542
7	0,250/7/A	13,6210	0,1467	13,7677	0,1838	13,6593	0,0754	143,7666	51,3974
14	0,250/14/A	13,6911	0,1494	13,8405	0,0551	13,8261	0,0407	35,3808	27,2423
21	0,250/21/A	13,4412	0,1487	13,5899	0,0145	13,5848	0,0094	54,2553	6,3215

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,250/1/B	14,4693	0,1432	14,6125	0,0623	14,5932	0,0430	44,8837	30,0279
3	0,250/3/B	14,4495	0,1557	14,6052	0,2456	14,4909	0,1313	87,0526	84,3288
7	0,250/7/B	13,3412	0,1459	13,4871	0,1807	13,3849	0,0785	130,1911	53,8040
14	0,250/14/B	13,4831	0,1477	13,6308	0,0563	13,6136	0,0391	43,9898	26,4726
21	0,250/21/B	13,4946	0,1565	13,6511	0,0135	13,6461	0,0085	58,8235	5,4313

Tab. 18: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,25$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 17 a 18)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	19,0114	119,2580	143,7666	35,3808	54,2553
B	44,8837	87,0526	130,1911	43,9898	58,8235
Průměr	31,9476	103,1553	136,9788	39,6853	56,5394

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	87,0861	77,8542	51,3974	27,2423	6,3215
B	98,0279	84,3288	53,8040	26,4726	5,4313
Průměr	92,5570	81,0915	52,6007	26,8574	5,8764

Tab. 19: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 19 a 20)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,5/1/A	13,9069	0,1558	14,0627	0,1913	14,0086	0,1372	39,4315	88,0616
3	0,5/3/A	14,7092	0,1542	14,8634	0,2724	14,7193	0,1283	112,3149	83,2036
7	0,5/7/A	13,7191	0,1502	13,8693	0,2179	13,7430	0,0916	137,8821	60,9854
14	0,5/14/A	13,6168	0,1524	13,7692	0,1745	13,6563	0,0616	183,2792	40,4199
21	0,5/21/A	14,1598	0,1571	14,3169	0,0783	14,2767	0,0381	105,5118	24,2521

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,5/1/B	13,7493	0,1475	13,8968	0,1738	13,8499	0,1269	36,9582	86,0339
3	0,5/3/B	13,6142	0,1566	13,7708	0,2771	13,6208	0,1271	118,0173	81,1622
7	0,5/7/B	13,6452	0,1565	13,8017	0,2220	13,6736	0,0939	136,4217	60,0000
14	0,5/14/B	13,3138	0,1373	13,4511	0,1464	13,3567	0,0520	181,5385	37,8733
21	0,5/21/B	13,7124	0,1493	13,8617	0,0675	13,8277	0,0335	101,4925	22,4380

Tab. 20: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,5$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 19 a 20)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	71,0696	146,6406	239,8958	150,1661	136,2595
B	57,9627	144,1770	248,4880	138,4899	130,5882
průměr	64,5162	145,4088	244,1919	144,3280	133,4239

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	88,78266	87,1341	64,9087	37,76662	36,18785
B	93,99865	87,5	65,2381	37,60388	22,54642
průměr	91,39066	87,31705	65,07341	37,68525	29,36713

Tab. 21: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,63$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne (Obr. 21 a 22)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,063/1/A	13,5916	0,1381	13,7297	0,1505	13,7071	0,1279	17,6701	92,6140
3	0,063/3/A	13,6774	0,1544	13,8318	0,2163	13,7344	0,1189	81,9176	77,0078
7	0,063/7/A	15,1735	0,1547	15,3282	0,2406	15,1912	0,1036	132,2394	66,9683
14	0,063/14/A	13,2180	0,1562	13,3742	0,1227	13,3248	0,0733	67,3943	46,9270
21	0,063/21/A	13,5437	0,1496	13,6933	0,0565	13,6763	0,0395	43,0380	26,4037

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	0,063/1/B	15,3495	0,1560	15,5055	0,1574	15,4795	0,1314	19,7869	84,2308
3	0,063/3/B	13,7548	0,1563	13,9111	0,2213	13,8069	0,1171	88,9838	74,9200
7	0,063/7/B	15,1996	0,1547	15,3543	0,2667	15,1972	0,1096	143,3394	70,8468
14	0,063/14/B	15,3876	0,1512	15,5388	0,0827	15,5107	0,0546	51,4652	36,1111
21	0,063/21/B	14,4954	0,1445	14,6399	0,0408	14,6291	0,0300	36,0000	20,7612

Tab. 22: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,63$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 21 a 22)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	17,6701	81,9176	132,2394	67,3943	92,6140
B	19,7869	88,9838	143,3394	51,4652	84,2308
průměr	18,7285	85,4507	137,7894	59,4297	88,4224

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	92,6140	77,0078	66,9683	46,9270	26,4037
B	84,2308	74,9200	70,8468	36,1111	20,7612
průměr	88,4224	75,9639	68,9076	41,5191	23,5825

Tab. 23: Stupeň bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 2,0$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 23 a 24)

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	2/1/A	13,6969	0,1434	13,8403	0,1732	13,8108	0,1437	20,5289	100,2092
3	2/3/A	13,6473	0,1498	13,7971	0,2329	13,7134	0,1492	56,0992	99,5995
7	2/7/A	13,7520	0,1533	13,9053	0,1817	13,8370	0,1134	60,2293	73,9726
14	2/14/A	14,5271	0,1535	14,6806	0,0850	14,6511	0,0555	53,1532	36,1564
21	2/21/A	13,3842	0,1554	13,5396	0,0559	13,5255	0,0418	33,7321	26,8983

Dny	označení vzorků	m_L	m_0	m_{LB}	m_b	m_{LS}	m_s	B	E
1	2/1/B	15,0979	0,1484	15,2463	0,1883	15,2051	0,1471	28,0082	99,1240
3	2/3/B	14,6952	0,1439	14,8391	0,2257	14,7571	0,1437	57,0633	99,8610
7	2/7/B	13,6681	0,1490	13,8171	0,1573	13,7687	0,1089	44,4444	73,0872
14	2/14/B	13,6718	0,1483	13,8201	0,0617	13,7991	0,0407	51,5971	27,4444
21	2/21/B	13,5570	0,1529	13,7099	0,0597	13,6889	0,0387	54,2636	25,3107

Tab. 24: Průměrné hodnoty stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 2,0$ při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 23 a 24)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	20,5289	56,0992	60,2293	53,1532	33,7321
B	28,0082	57,0633	44,4444	51,5971	54,2636
průměr	24,2685	56,5813	52,3369	52,3751	43,9978

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
A	100,2092	99,5995	73,9726	36,1564	26,8983
B	99,1240	99,8610	73,0872	27,4444	25,3107
průměr	99,6666	99,7302	73,5299	31,8004	26,1045

3.3 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. -21. dne – tabulky, průměrné hodnoty obou měření.

Tab. 25: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání a eroze u vzorků 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 25 a 26)

Bobtnání					
měření/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	6,7341	11,2155	6,6191	9,1104	12,8431
2. měření Ø	20,1147	18,2580	20,6763	25,3065	39,7321
Průměr	13,4244	14,7367	13,6477	17,2085	26,2876

Eroze					
pufr 0	1	3	7	14	21
1. měření Ø	99,2664	94,3599	72,7837	28,7220	4,2608
2. měření Ø	98,2726	95,4932	69,0975	27,0382	5,2542
Průměr	98,7695	94,9266	70,9406	27,8801	5,1453

Tab. 26: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,125$ při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 27 a 28)

Bobtnání					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	72,64573	193,1859	76,21776	41,33907	148,2955
2. měření Ø	58,51415	119,9477	38,29528	26,40805	43,77533
průměr	65,57994	156,5668	57,25652	33,87356	96,03539

Eroze					
vzorek/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	97,30854	90,41977	76,21776	41,33907	6,419127
2. měření Ø	93,01327	68,13572	31,21576	21,27083	21,48176
průměr	95,1609	79,27774	53,71676	31,30495	13,95044

Tab. 27: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,25$ při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 29 a 30)

Bobtnání					
měření/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	31,9475	103,1553	136,9788	39,6853	56,5394
2. měření Ø	53,8112	64,8734	171,3449	168,2336	287,8653
průměr	42,8793	84,0143	154,1619	103,9594	172,2024

Eroze					
měření/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	92,5570	81,0915	52,6006	26,8574	5,8763
2. měření Ø	84,5030	69,2497	56,2741	24,9418	10,7193
průměr	88,5300	75,1706	54,4374	25,8996	8,2978

Tab. 28: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání a eroze 3M o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí fosfátového pufru o koncentraci $c = 0,5$ při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne. (Obr. 31 a 32)

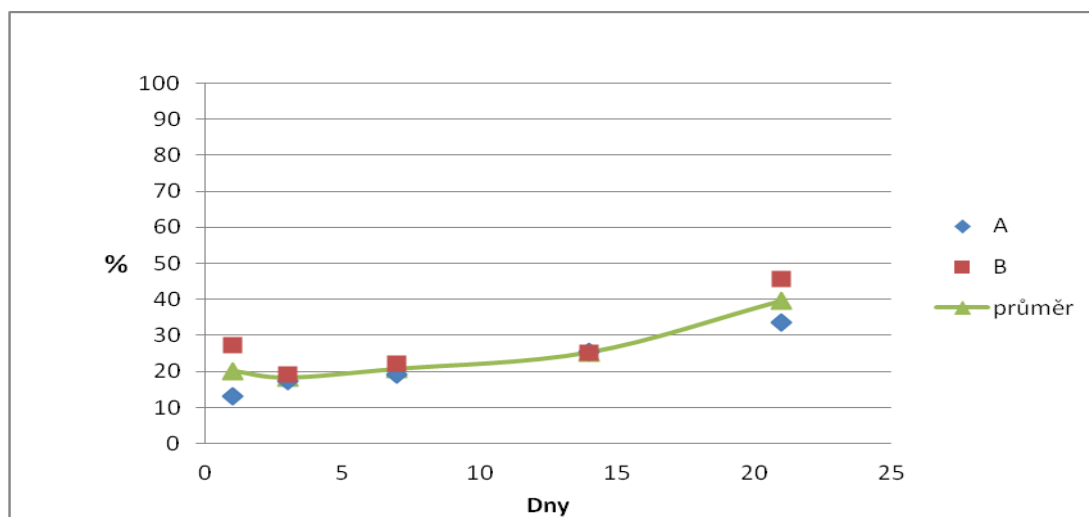
Bobtnání					
měření/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	38,1949	115,1661	137,1519	182,4088	103,5022
2. měření Ø	38,8203	99,0895	125,9972	171,3449	148,2955
Průměr	38,5075	107,1278	131,5746	176,8769	125,8988

Eroze					
měření/dny	1	3	7	14	21
1. měření Ø	87,0477	82,1829	60,4927	39,1466	23,3451
2. měření Ø	61,7255	20,1796	12,8982	10,7653	6,4191
Průměr	74,3866	51,1812	36,6954	24,9560	14,8821

3.4 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – obrázky, 1. měření.

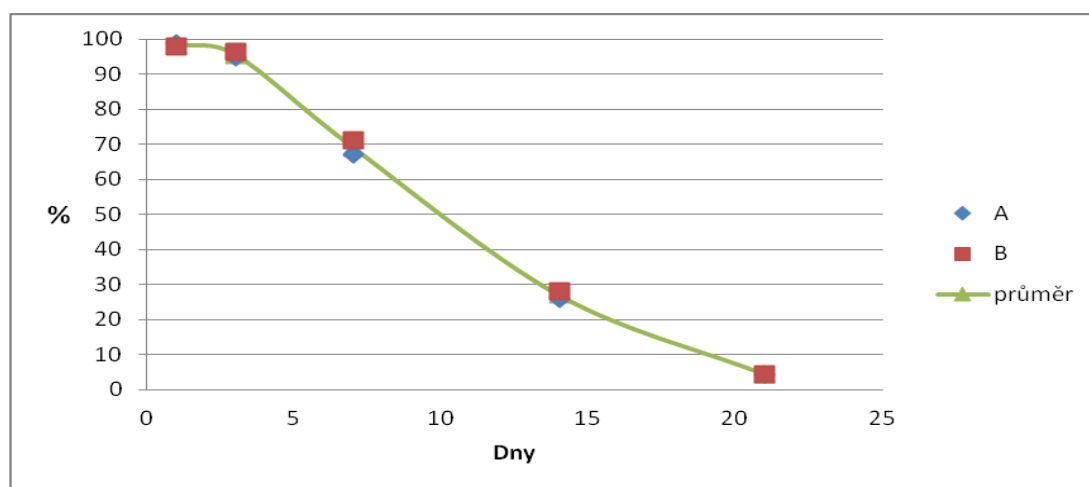
Obr. 1: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B v prostředí vody v průběhu 1.–21. dne.

(Tab. 1 a 2)

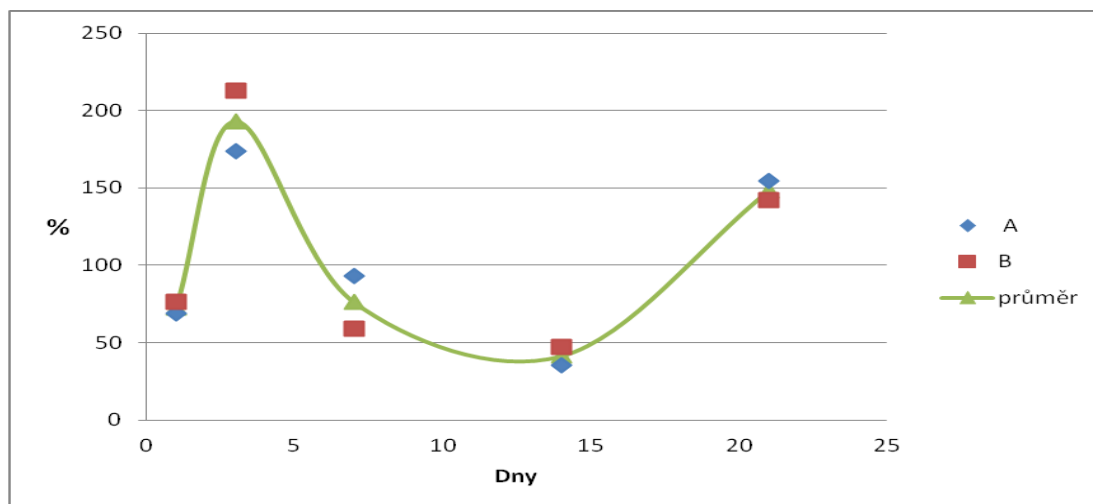


Obr. 2: Stupeň eroze 3M vzorků A, B v prostředí vody při 37 °C v průběhu 1. - 21. dne.

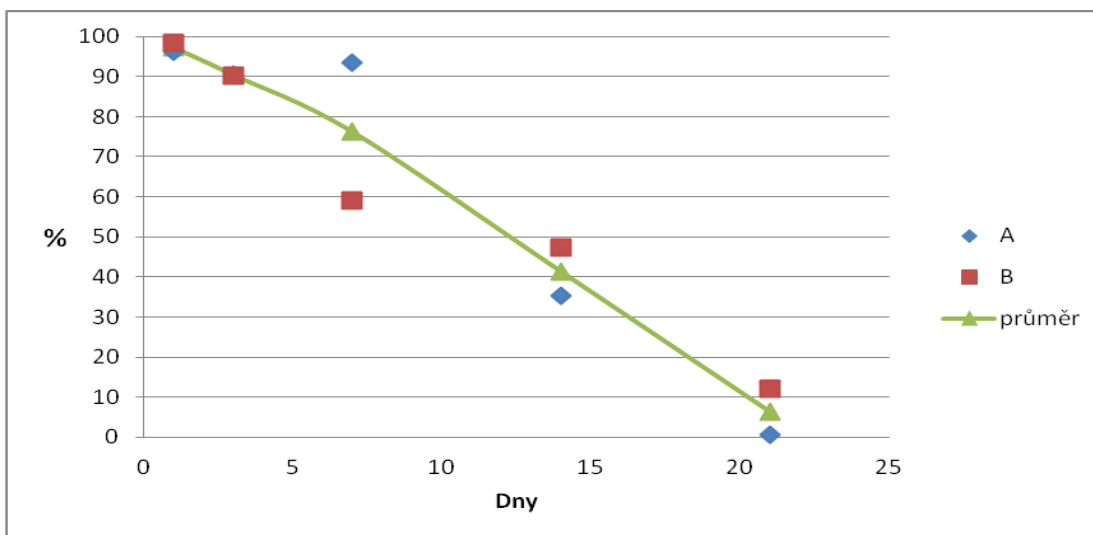
(Tab. 1 a 2)



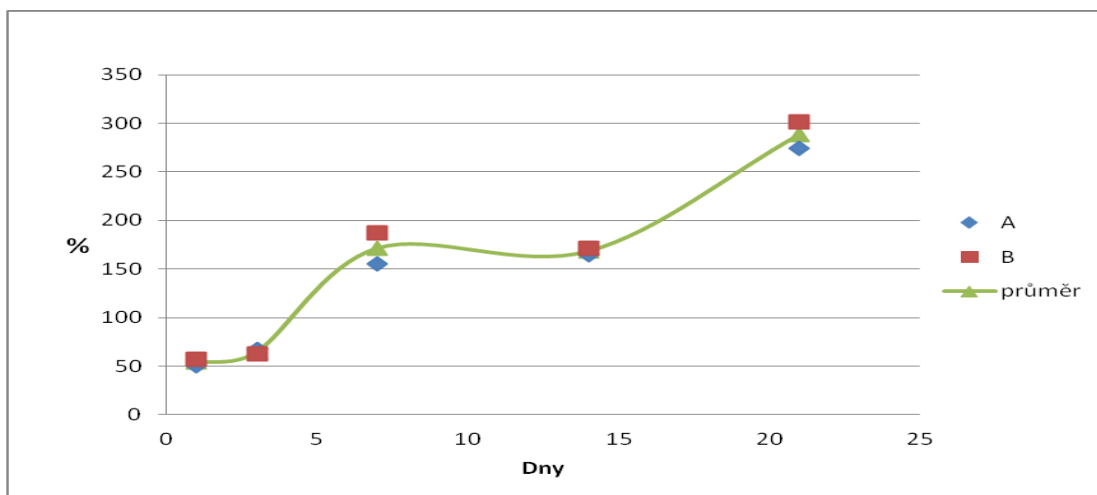
Obr. 3: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 3 a 4)



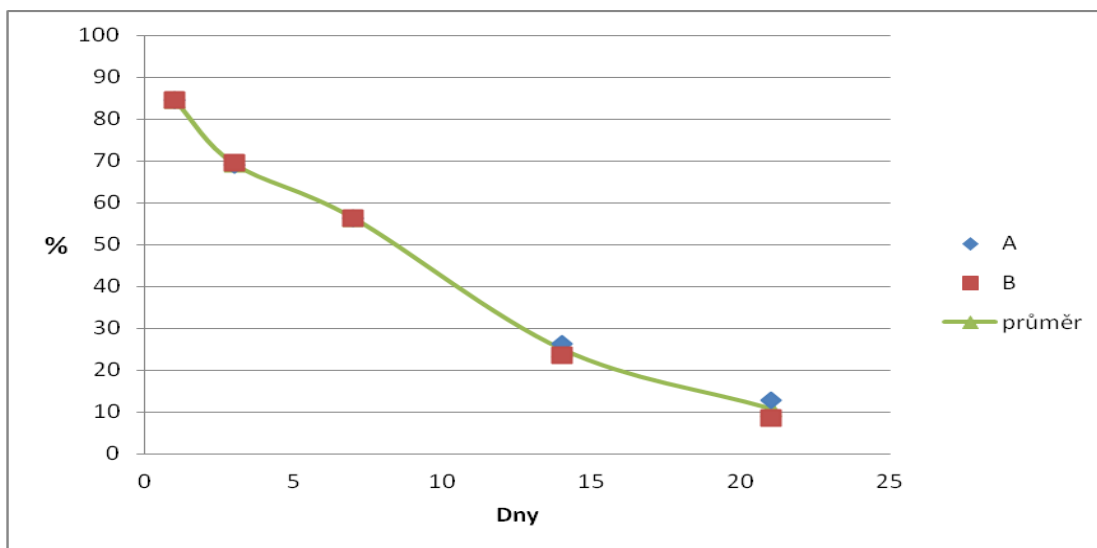
Obr. 4: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 3 a 4)



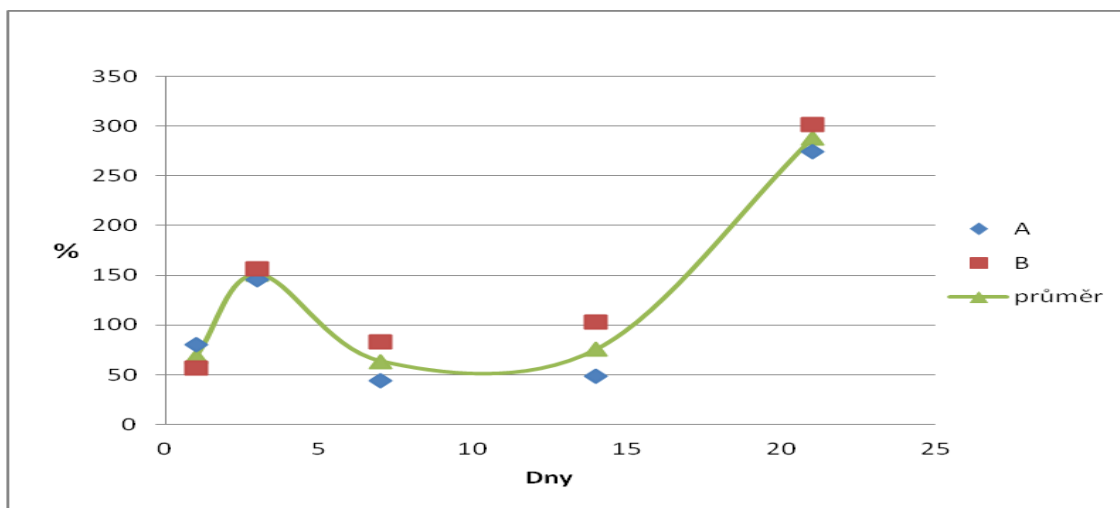
Obr. 5: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 5 a 6)



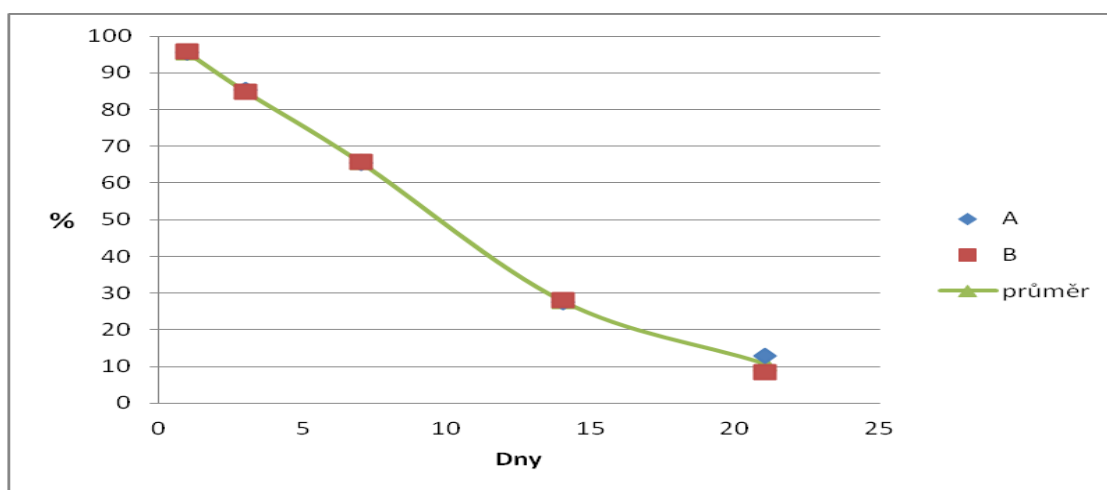
Obr. 6: Stupeň eroze 3M o hmotnosti A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 5 a 6)



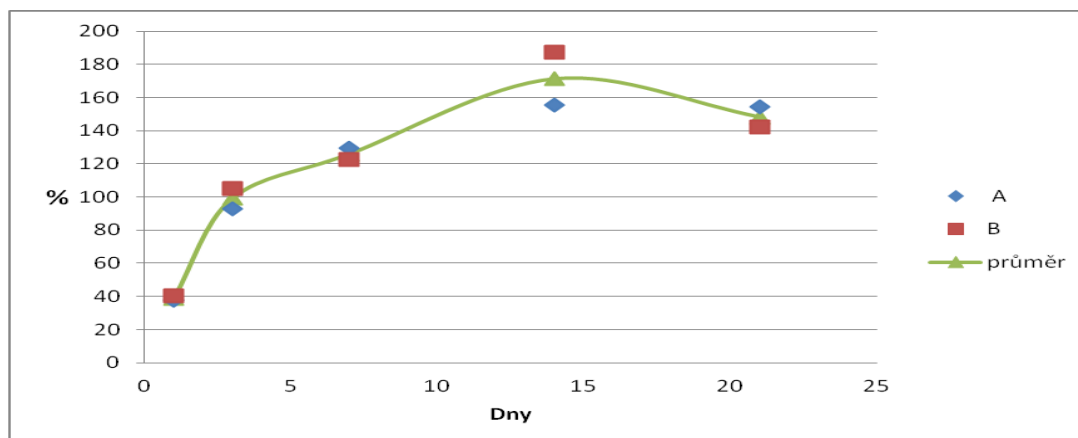
Obr. 7: Stupeň bobtnání 3M A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,375$
v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 7 a 8)



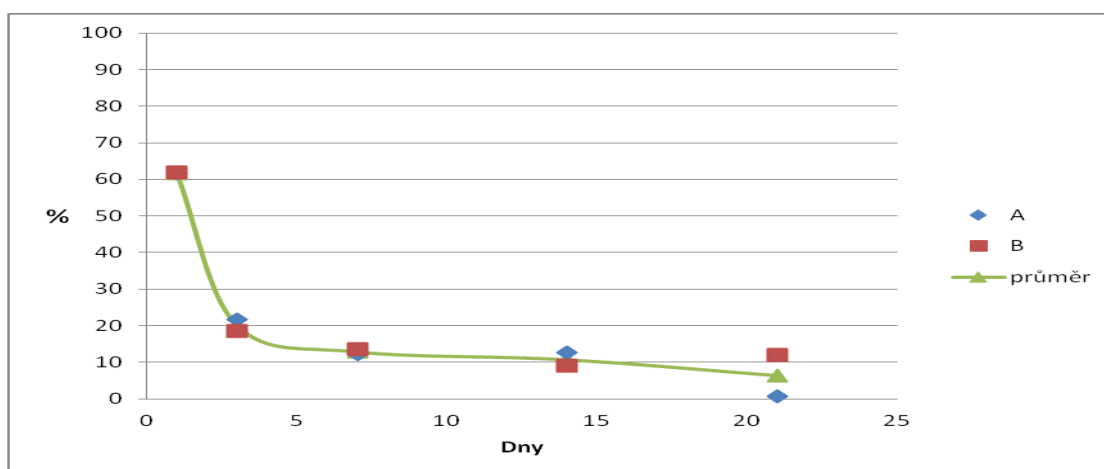
Obr. 8: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,375$
v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 7 a 8)



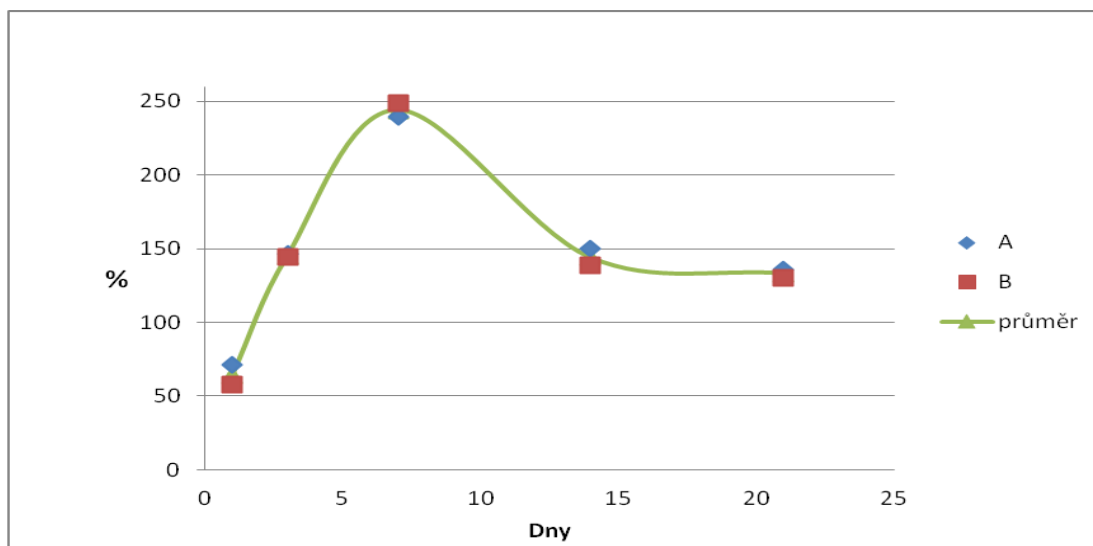
Obr. 9: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 9 a 10)



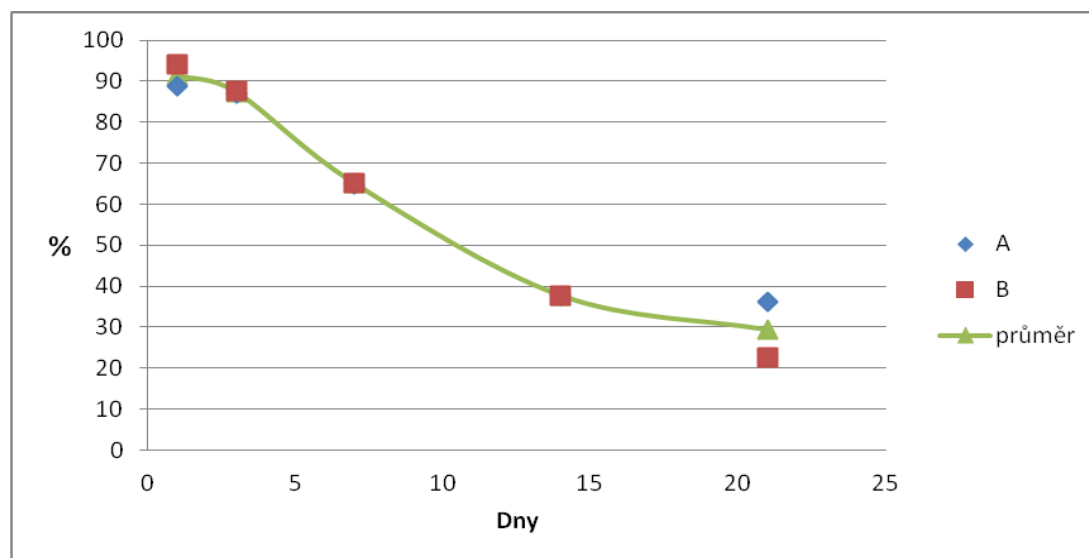
Obr. 10: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 9 a 10)



Obr. 11: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 1,0$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 11 a 12)

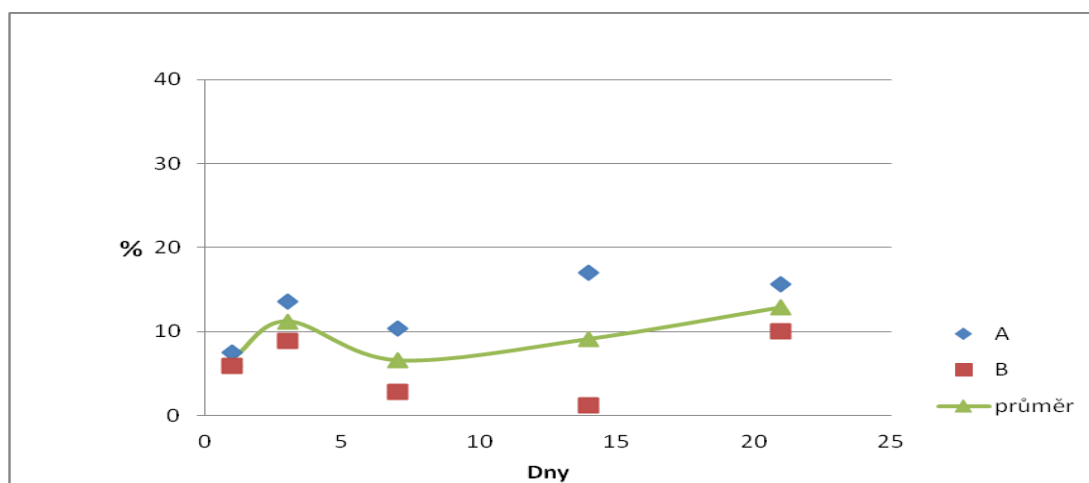


Obr. 12: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 1,0$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 11 a 12)

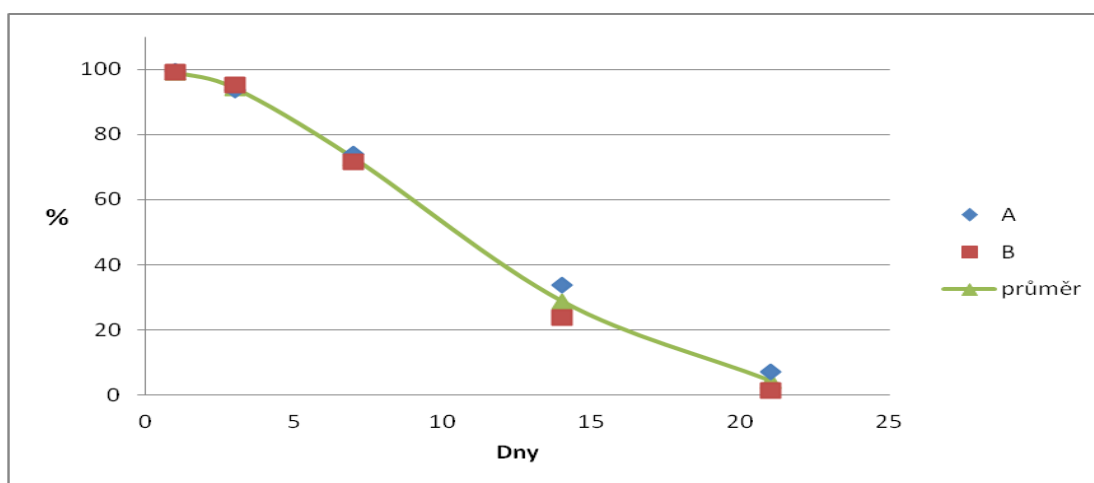


3.5 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. - 21. dne – obrázky. 2. měření.

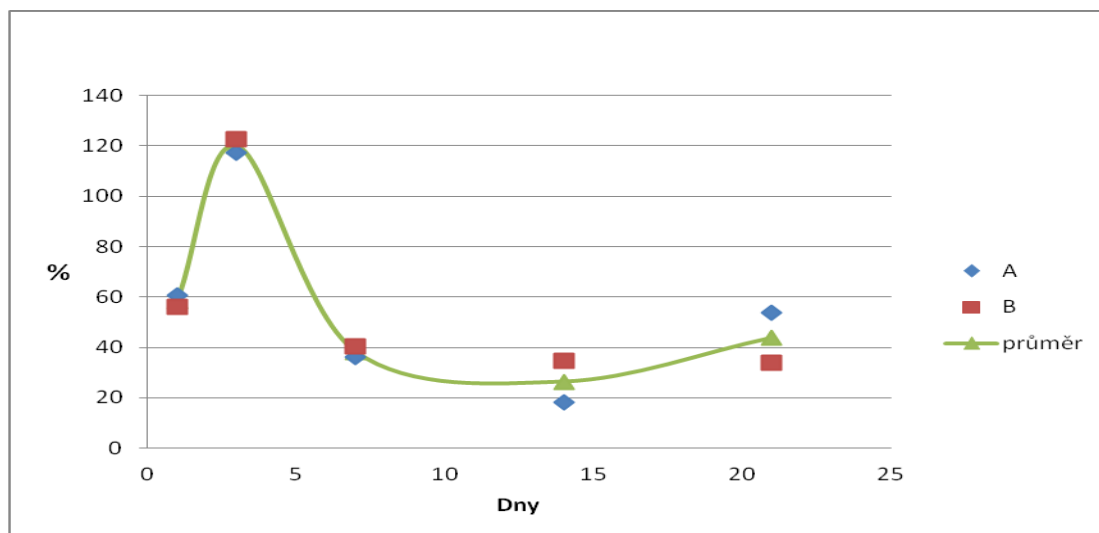
Obr. 13: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B v prostředí vody v průběhu 1. - 21. dne.
(Tab. 13 a 14)



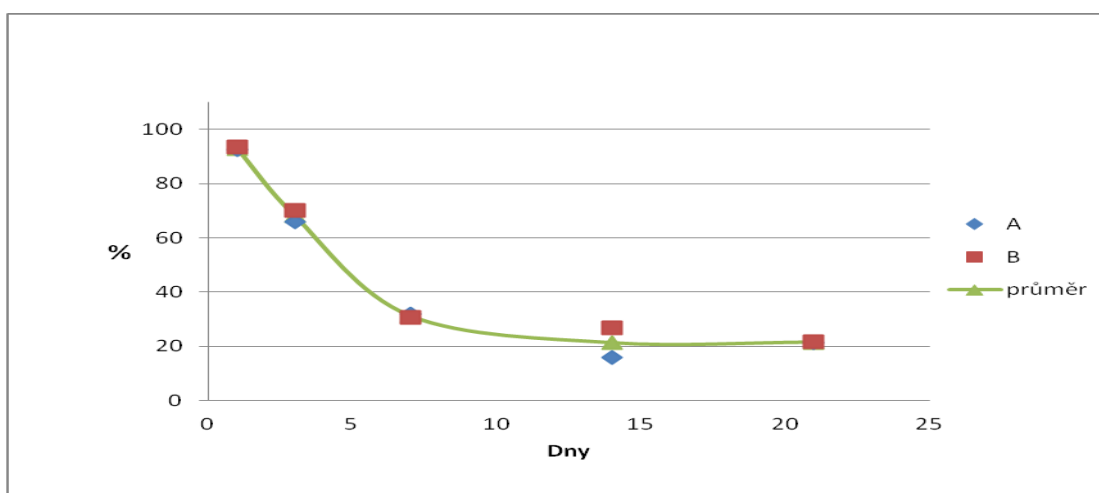
Obr. 14: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru v prostředí vody v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 13 a 14)



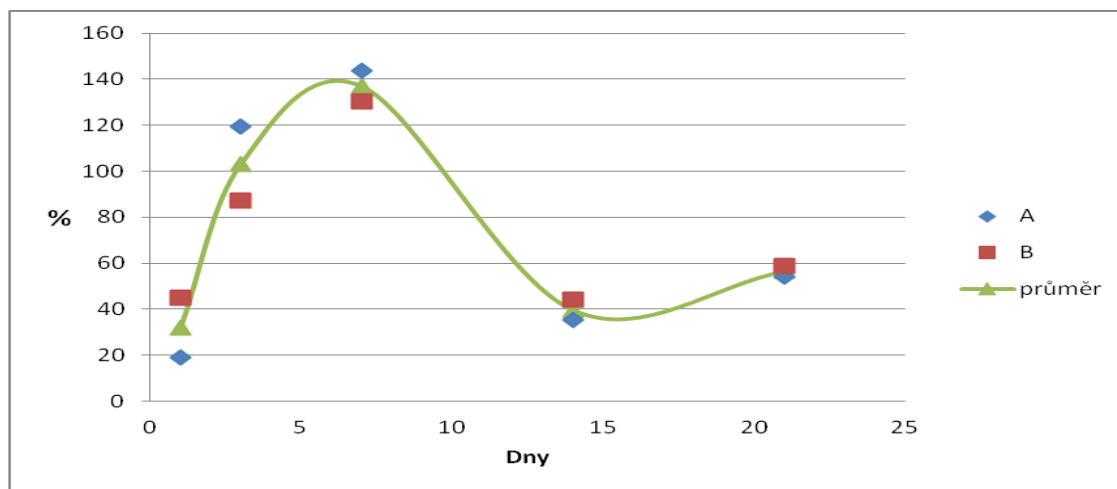
Obr. 15: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 15 a 16)



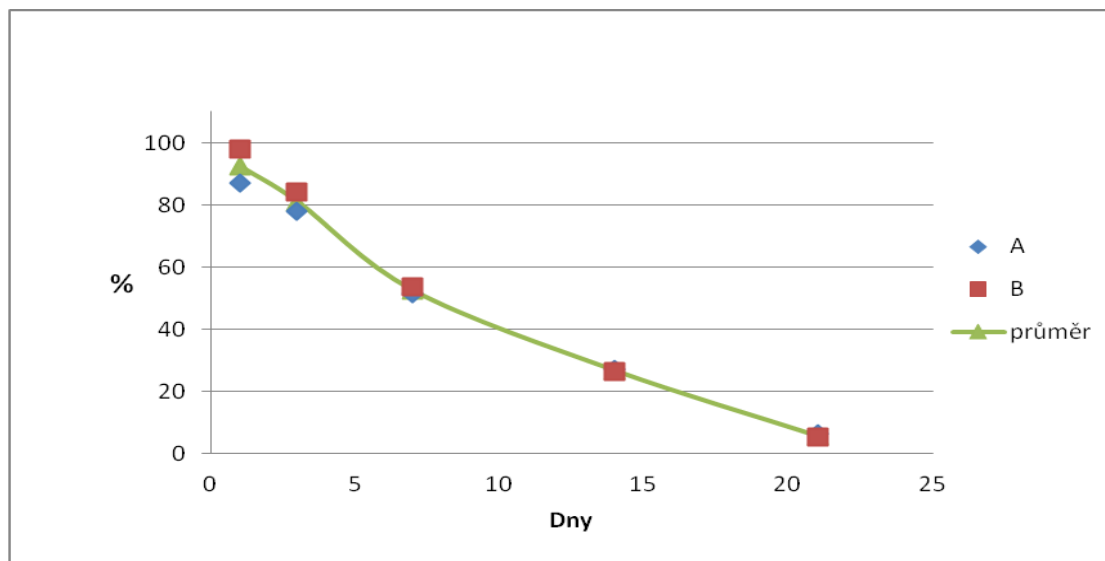
Obr. 16: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 15 a 16)



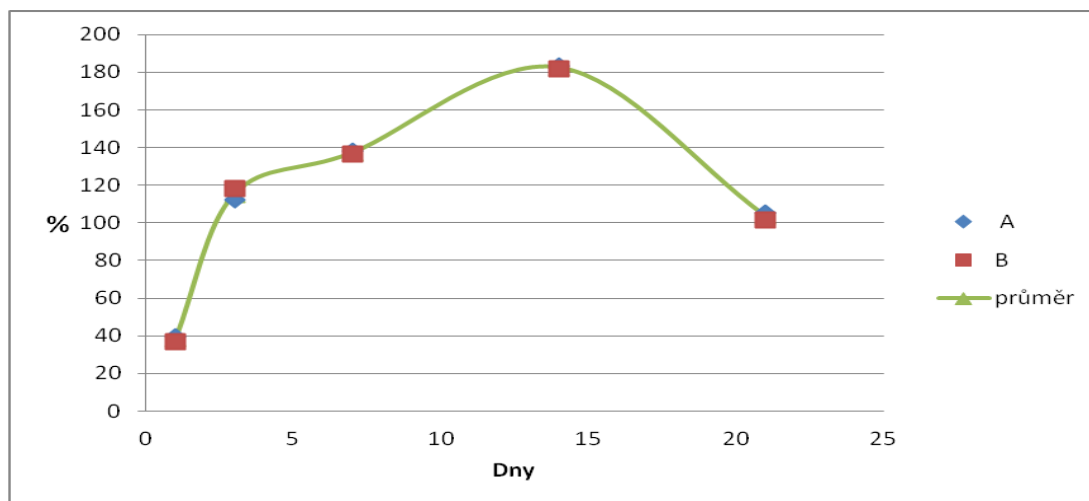
Obr. 17: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 17 a 18)



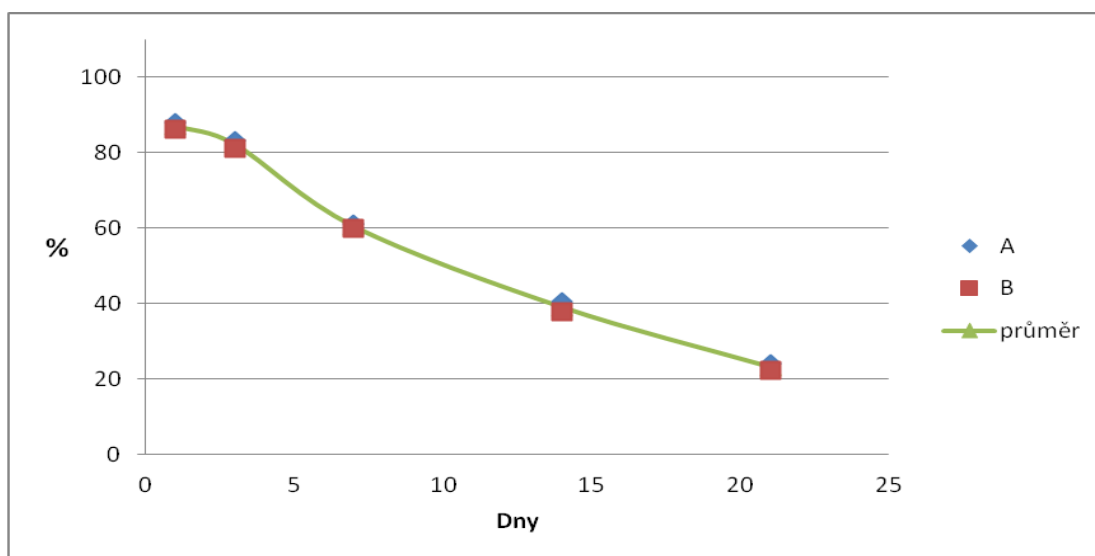
Obr. 18: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 17 a 18)



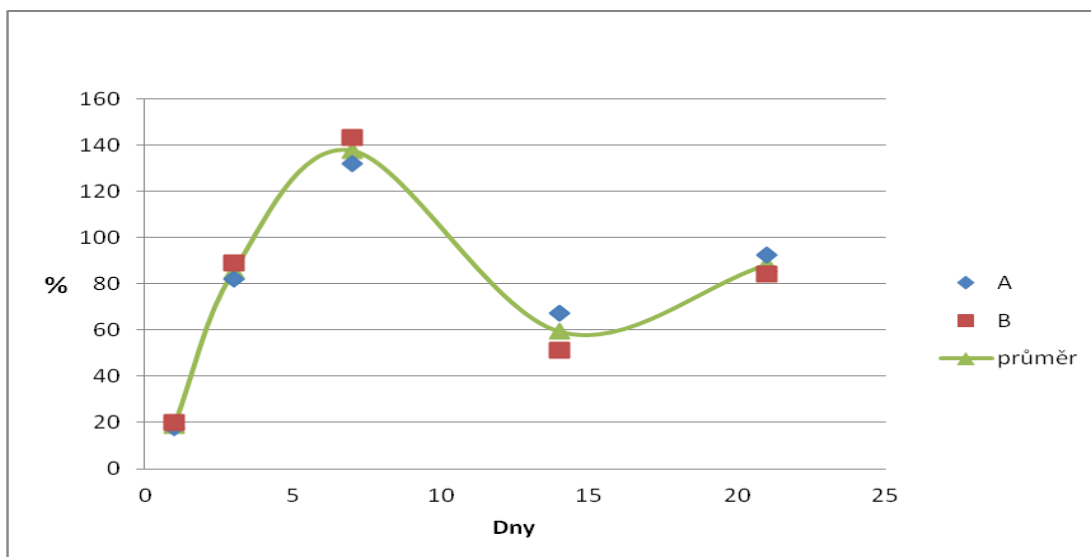
Obr. 19: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 19 a 20)



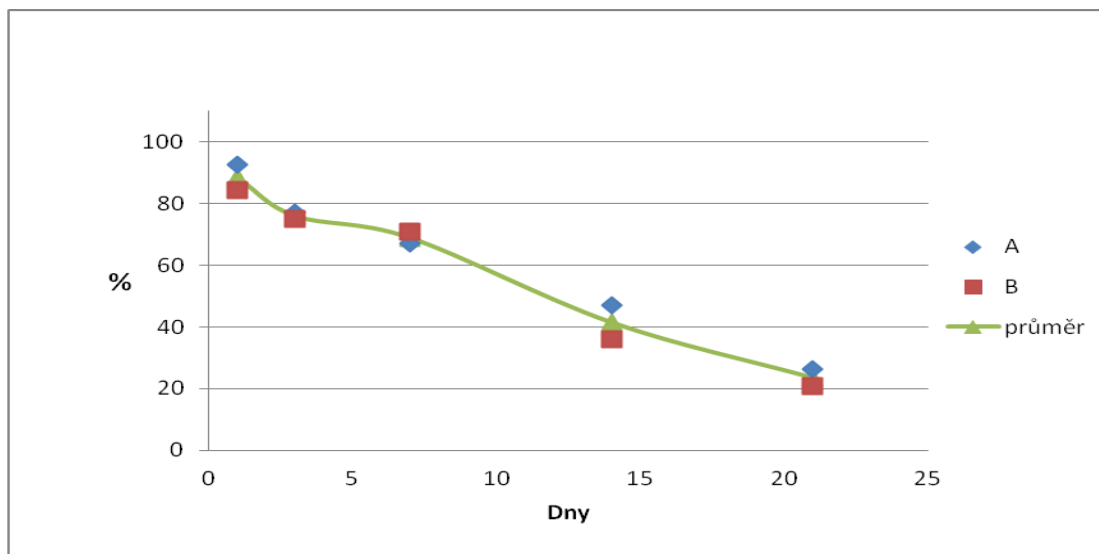
Obr. 20: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 19 a 20)



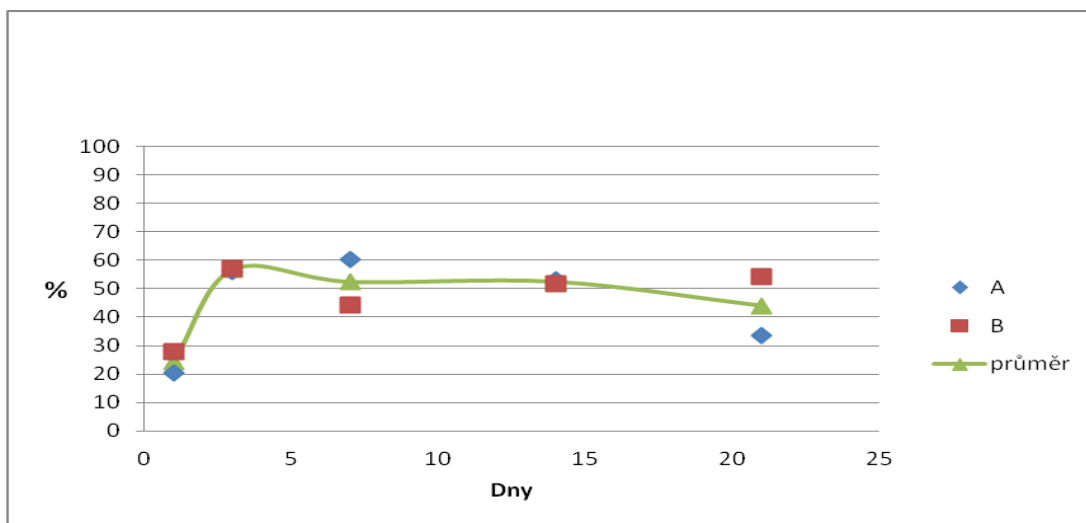
Obr. 21: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,63$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 21 a 22)



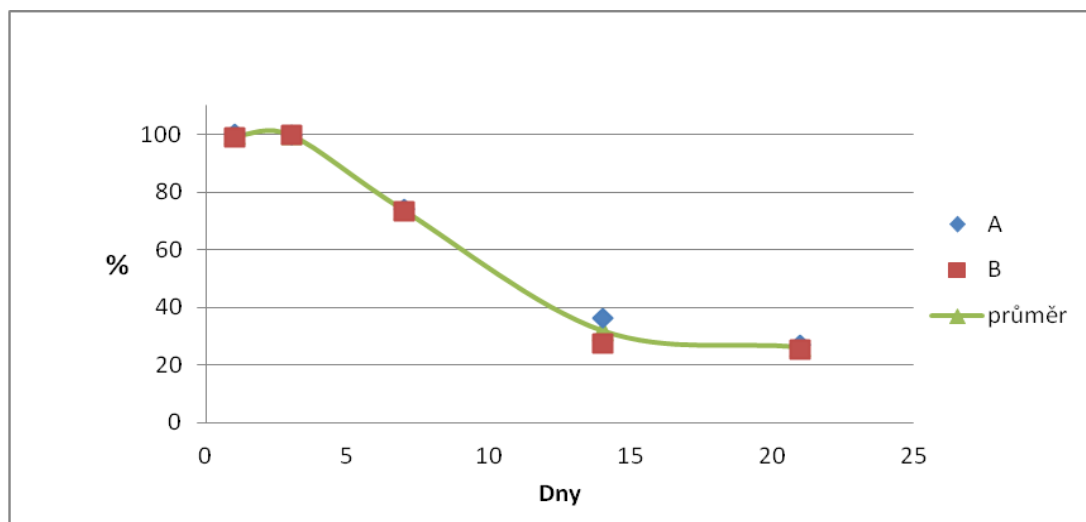
Obr. 22: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,63$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 21 a 22)



Obr. 23: Stupeň bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 2,0$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 23 a 24)

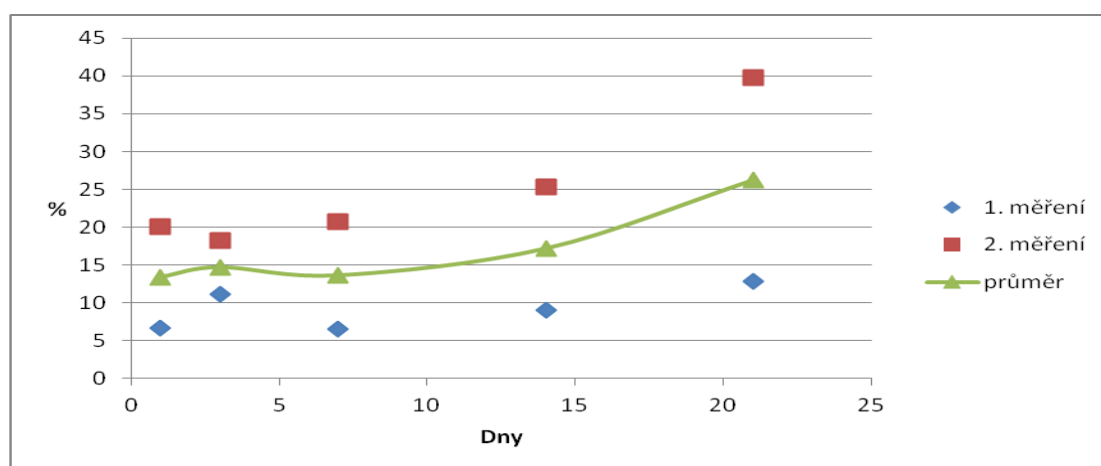


Obr. 24: Stupeň eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 2,0$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 23 a 24)

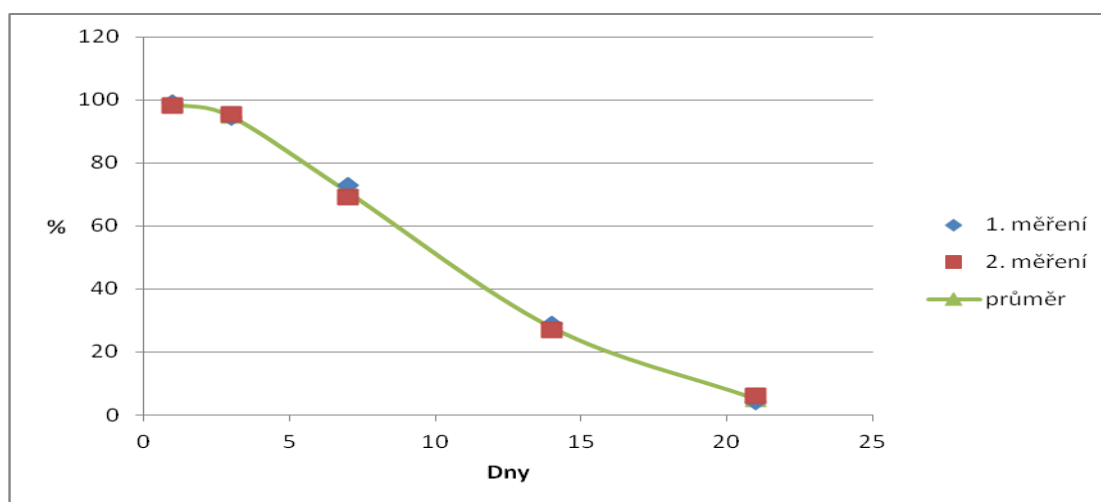


3.6 Chování 3M tělísek o hmotnosti 150 mg ve vodném prostředí při teplotě 37 °C v průběhu 1. -21. Dne - obrázky. Průměrné hodnoty obou měření.

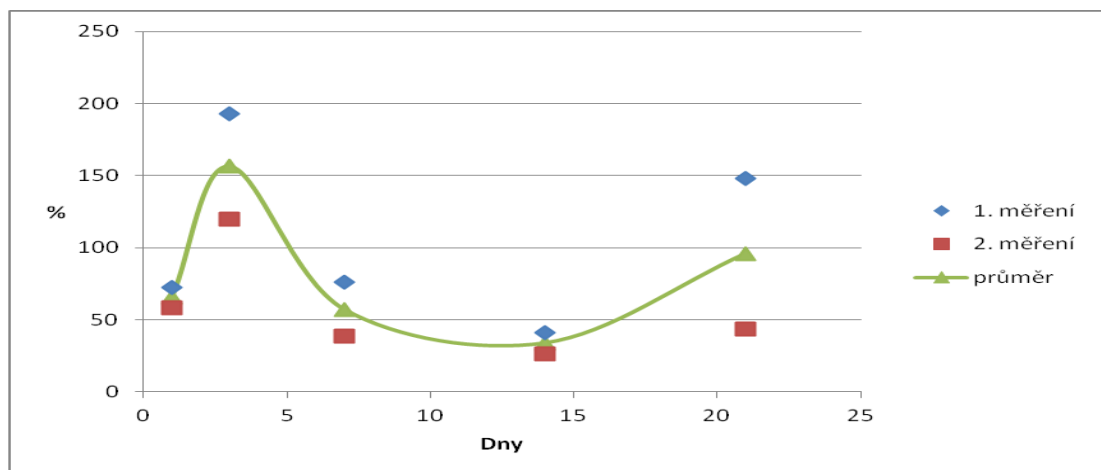
Obr. 25: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání u vzorků 3M vzorků A, B v prostředí vody v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 25)



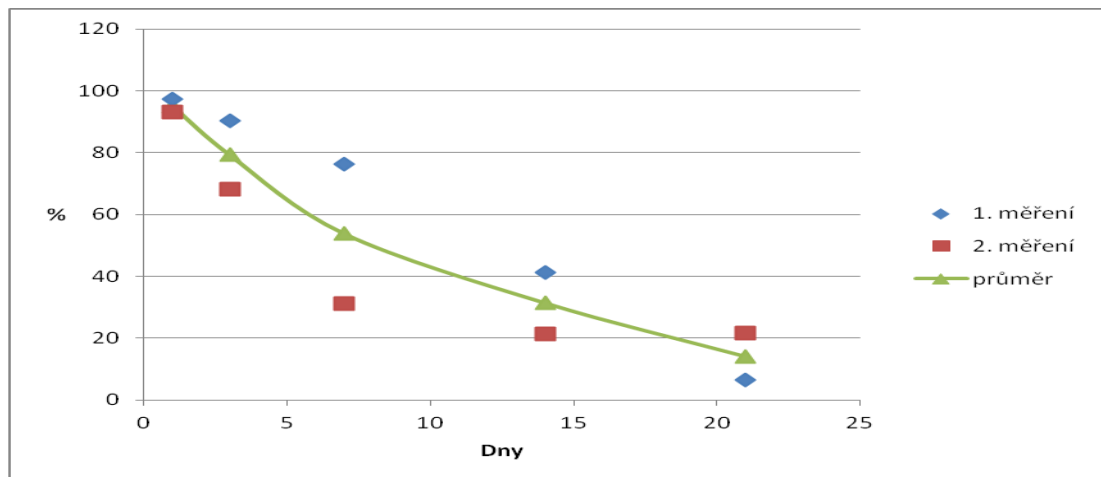
Obr. 26: Průměrné hodnoty obou měření stupně eroze u vzorků 3M vzorků A, B v prostředí vody v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 25)



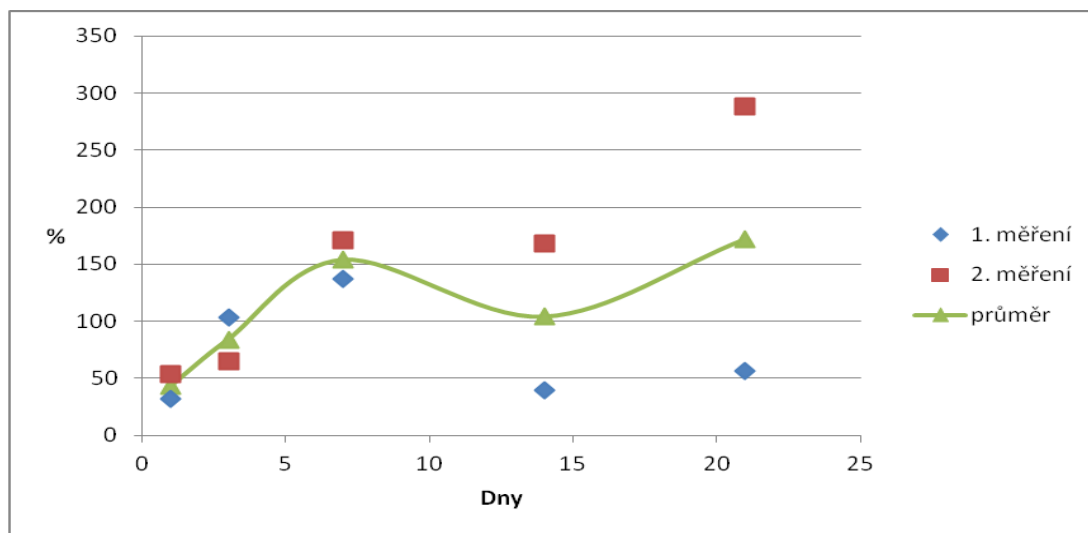
Obr. 27: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 26)



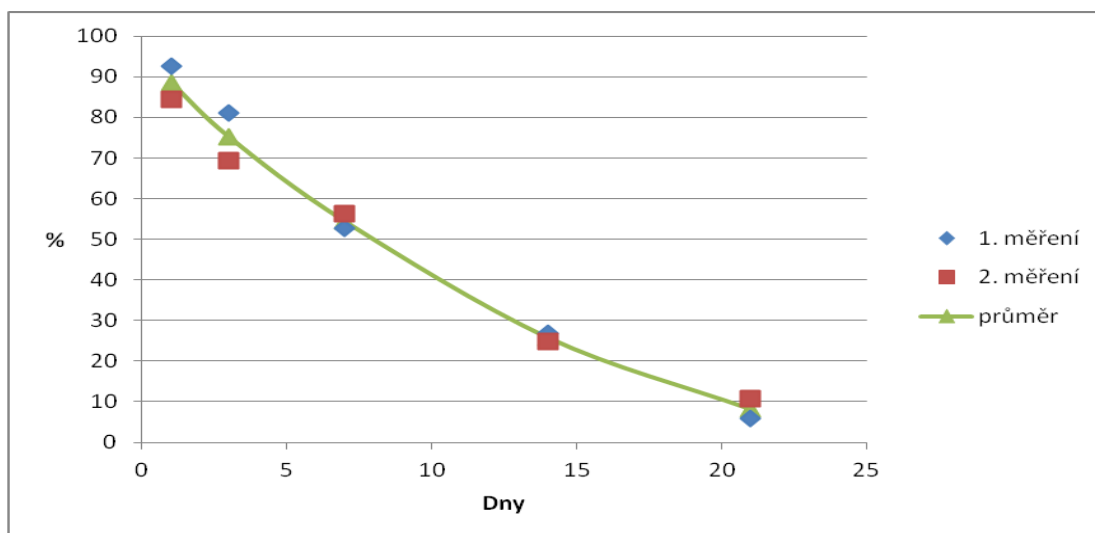
Obr. 28: Průměrné hodnoty obou měření stupně eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,125$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 26)



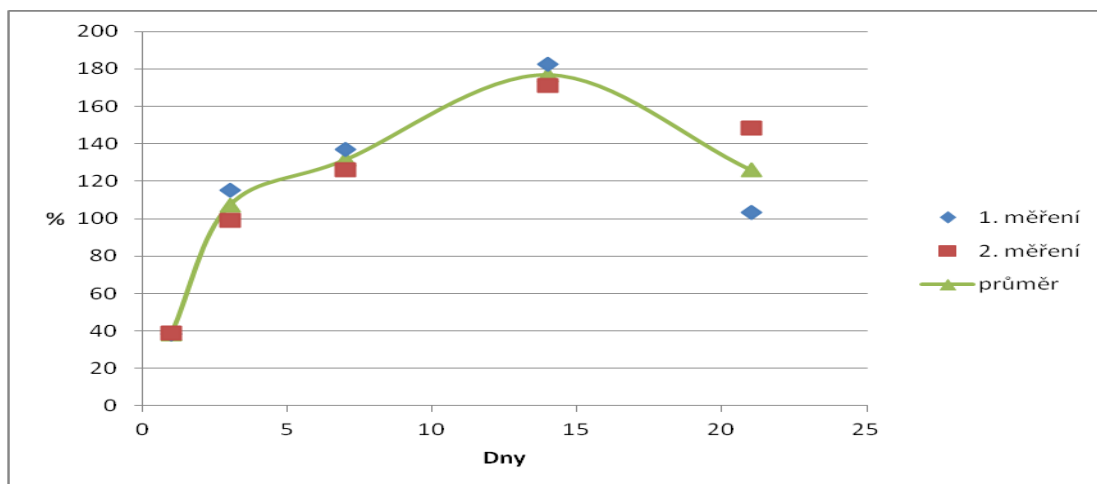
Obr. 29: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 27)



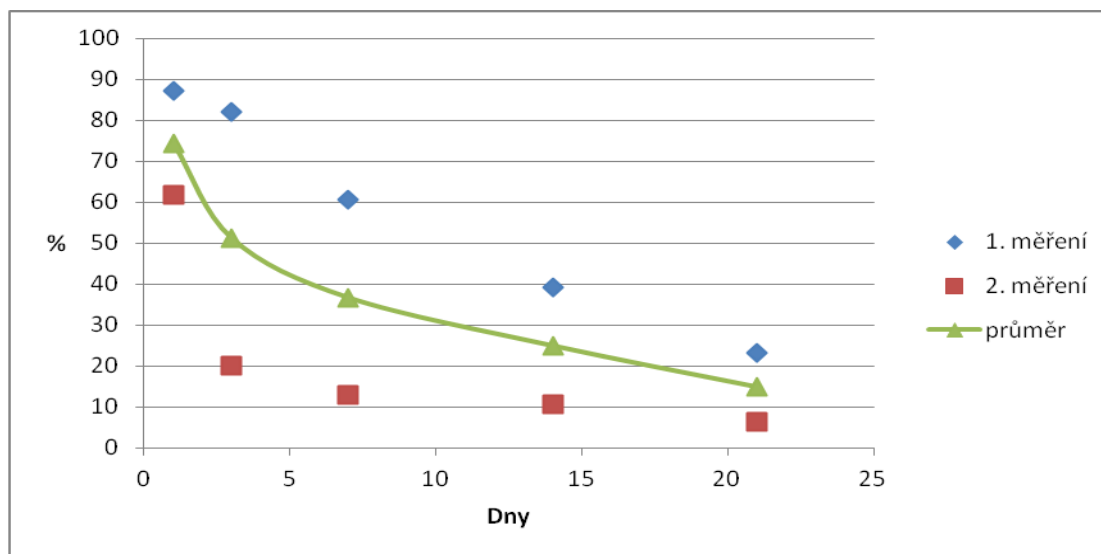
Obr. 30: Průměrné hodnoty obou měření stupně eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,25$ C v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 27)



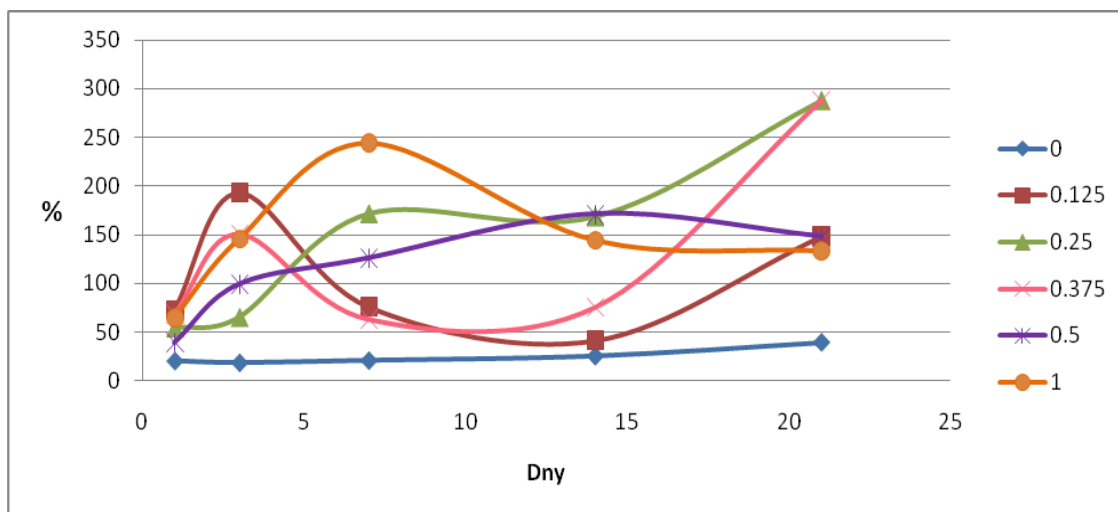
Obr. 31: Průměrné hodnoty obou měření stupně bobtnání 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 28)



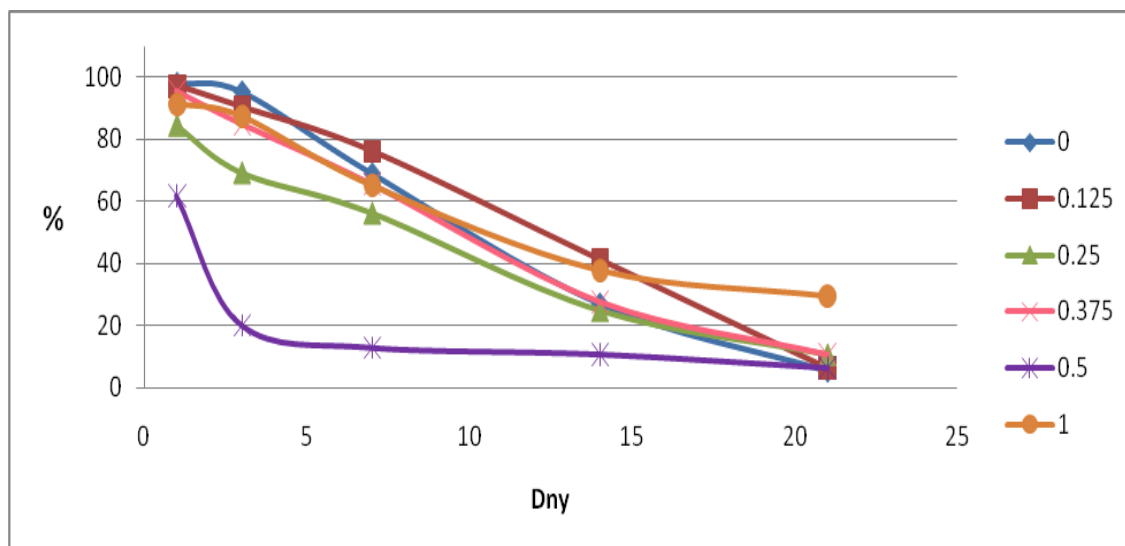
Obr. 32: Průměrné hodnoty obou měření stupně eroze 3M vzorků A, B ve fosfátovém pufru o koncentraci $c = 0,5$ v průběhu 1. - 21. dne. (Tab. 28)



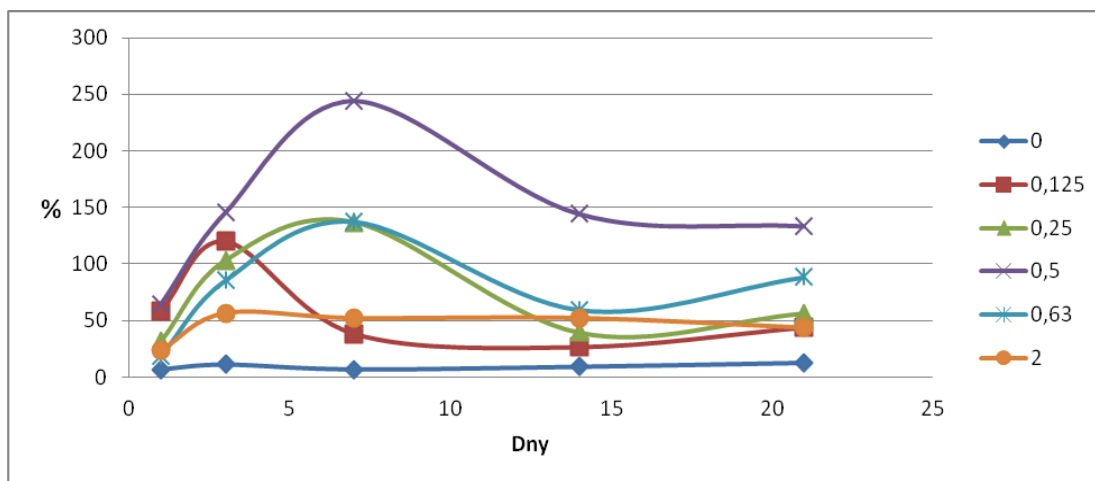
Obr. 33: Porovnání průměrných hodnot stupně bobtnání 3M v různých koncentracích fosfátového pufru a ve vodném prostředí. 1. Měření. (Tab. 2,4,6,8,10,12)



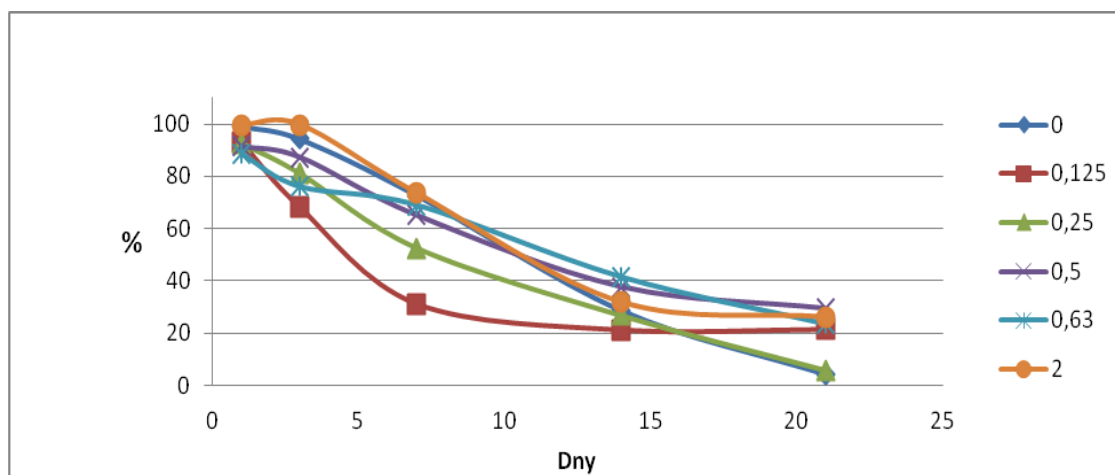
Obr. 34: Porovnání průměrných hodnot stupně eroze 3M v různých koncentracích fosfátového pufru a ve vodném prostředí. 1. Měření (Tab. 2, 4, 6, 8, 10, 12)



Obr. 35: Porovnání průměrných hodnot stupně bobtnání 3M v různých koncentracích fosfátového pufru a ve vodném prostředí. 2. Měření. (Tab. 14, 16, 18, 20, 22, 24)



Obr. 36: Porovnání průměrných hodnot stupně eroze 3M v různých koncentracích fosfátového pufru a ve vodném prostředí. 2. Měření. (Tab. 14,16,18,20,22,24)



4 Diskuse

4.1 K tématu diplomové práce

Téma, které bylo předloženo k řešení, je součástí prací zaměřených na studium interakcí biodegradabilních polyesterů alifatických alfa hydroxykyselin s vodným médiem. Uvolňování léčivých látek s většími molekulami je do značné míry determinováno průběhem degradace nosiče. Degradace polymerů je obvykle chápána jako proces snižování molekulové hmotnosti různými mechanismy. Z farmaceutického hlediska jsou velmi důležitými parametry bobtnání a eroze. U alifatických polyesterů se jedná o děje, které spolu souvisí, i když mají obvykle zcela odlišný průběh.

V dřívějších pracích bylo prokázáno velmi intenzivní bobtnání nízkomolekulárních oligomerů kyseliny DL-mléčné, glykolové a mannitolu. Oligomerní tělíska velmi citlivě reagovala i na velmi slabé změny podmínek. Pozoruhodné bylo velmi silné bobtnání v prostředí velmi zředěných roztoků pufrů. Hlavní zájem v této práci byl směřován do ověření chování oligomeru ve škále hypotonických roztoků fosfátového pufru pH 7,0. Dalším úkolem bylo ověřit si spolehlivost jednotlivých měření z hlediska jejich variability. Byla zvolena nejčastěji studovaná 150 miligramová velikost tělísek.

4.2 K bobtnání a erozi v prostředí čištěné vody

Již dříve bylo prokázáno, že sloučeniny typu alifatických polyesterů ve vodě bobtnají v malém rozsahu. To je vysvětlitelné hydrofobním charakterem sloučenin obsahujících koncové hydroxylové skupiny a v menším podílu také neionizované karboxylové skupiny. Jednotlivé naměřené hodnoty jsou na Obr. 1 a na Obr. 3. Průběh bobtnání je v podstatě progresivní. Byl zaznamenán rozdíl v jednotlivých sériích, o důvodu je v této fázi obtížné spekulovat. Z Obr. 5 je rozdíl v intenzitě bobtnání vzorků testovaných v různých sériích s časovým odstupem patrný. Také monotónní trend progresivního bobtnání byl opakovaně prokázán.

Eroze tělísek probíhala v jednotlivých sériích v pozoruhodné shodě s minimální variabilitou (Obr. 2,4,6). Doba úplné eroze těsně přesahovala interval 21 dní. Při nízké molekulové hmotnosti polyesteru je pozoruhodná pomalá eroze v intervalu prvních tří dnů. Při 15 % stupni bobtnání je možno tento výsledek pokládat za nepřímý důkaz velmi nízké koncentrace ve vodě rozpustných nízkomolekulárních oligoesterů. Při syntéze polykondenzační reakcí vedené za vysoké teploty a vakua se nízkomolekulární frakce odpařila. To je možno pokládat za pozitivní informaci o kvalitě studovaného polyesterového nosiče.

4.3 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,125 násobku isotonického roztoku

Při pH pufru 7,0 je možno předpokládat, že se budou ionizovat karboxylové skupiny a stupeň bobtnání bude mít vyšší hodnoty než v prostředí vody. Jak je patrné z Obr. 7, 9 a 11, tento předpoklad se splnil. Rychlost bobtnání je již od prvního měřeného intervalu značně vyšší. V třídním intervalu má maximum, následuje rychlé odbobtnání do širokého několikadenního minima. Po dvou týdnech nastupuje poslední fáze druhého bobtnání. Mezi měřeními různých dvojic vzorků byl hlavní rozdíl ve výraznosti a době trvání minima bobtnání.

Průběh eroze je poznamenán složitostí procesu bobtnání, jeho značná variabilita se v první sérii projevila v sedmidenním intervalu. Ve druhé sérii došlo po prvních sedmi dnech ke zpomalení eroze, pro které nemáme v této fázi řešení vysvětlení. Hodnoty zprůměrované ze 4 měření na Obr. 12 vykazují exponenciální průběh eroze. Mezi maximem bobtnání a plynulostí křivky eroze nebyla prokázána žádná souvislost.

4.4 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,25 násobku isotonického roztoku

Po zvýšení koncentrace pufru na dvojnásobek se výrazně změnil průběh bobtnání. V první sérii experimentů bobtnání probíhalo progresivně s náznakem maxima v podobě „vlny“ v intervalu 7 dní. Ve finálním intervalu experimentu dosáhl stupeň bobtnání hodnoty 300 %. To znamená, že struktura gelu expandovala na trojnásobný objem. Ve druhé sérii bylo prokázáno jednoznačné maximum hodnot stupně bobtnání přibližně v intervalu 6 dní. Poté následovalo intenzivní odbobtnání s minimem situovaným přibližně v 15. dni. Tyto dva poměrně odlišné záznamy na Obr. 13 a na Obr. 15 jsou sumarizovány do průměru ze 4 hodnot na Obr. 17. Maximum hodnot stupně bobtnání je možno pokládat za věrohodné, pro prokázání minima by bylo nutno provést více opakování.

Pokud jde o erozi, rozdíl mezi opakováními pokusů byl v počáteční fázi (Obr. 14 a 16). Za jeden den došlo k erozi 10 až 15 % materiálu, Vysvětlením je velmi rychlé bobtnání vedoucí k otevření difúzních cest pro nízkomolekulární frakci polymeru, Za 21 dní působení média zbývalo asi 10 % neerodovaného polymeru, V první sérii byl stupeň bobtnání tohoto zbytku 300 %, ve druhé 60 %.

4.5 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,375 násobku isotonického roztoku

Testování bylo provedeno v jedné dvakrát opakované sérii vzorků. Na Obr. 19 je znázorněn průběh bobtnání, který má podobné rysy jako výše uvedený v pufru stupně zředění 0,25. Za tři dny bylo s vysokou reprodukovatelností prokázáno maximum hodnot stupně bobtnání, následovalo odbobtnání do minima v době trvání přibližně týden. Poslední třetina vzorku bobtnala do stejného 300 % rozsahu na konci experimentu. Zbytek polymeru činil 10 %, stejně jako u výše uvedeného zředěnějšího

pufu. Eroze v časovém úseku do 10. dne probíhala podle kinetiky nultého řádu. Ve druhé fázi se její rychlost postupně snižovala.

4.6 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,5 násobku isotonického roztoku

V roztoku pufru, který měl poloviční koncentraci oproti isotonickému, došlo ve srovnání s více zředěným pufrem o koncentraci 0,375 násobné k podstatné změně v průběhu bobtnání. Děj probíhal progresivně s vysokou reprodukovatelností až do 14. dne (Obr. 21, 23). V další fázi následovalo odbobtnání z maxima 180 % na hodnotu 100 %, tedy na dvojnásobek nezbotnalého na konci experimentu v časovém intervalu 21 dní.

Průběh eroze se v jednotlivých sériích podstatně lišil. V první sérii byla za 1. den prokázána 40 % eroze, což je výsledek, který je nutno pokládat za chybný (Obr. 22). Vysvětlení příčiny není v této fázi k dispozici. Výsledek dosažený ve druhé sérii je možno pokládat za věrohodný, zajímavá je eroze v rozsahu přes 10 % za 1. den následovaná jejím zpomalením do 3. dne. Při fázi zpomalení eroze byla prokázána fáze rychlého bobtnání. Je to logické, při intenzivním bobtnání probíhá konvekce do tělesa, která brzdí volnou difúzi degradačních produktů z tělesa do okolí. Do konce experimentu erodovalo téměř 80 % materiálu (Obr. 24).

4.7 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o koncentraci 0,63 násobku isotonického roztoku

Po mírném zvýšení koncentrace pufru z 0,5 násobné na 0,63 násobnou došlo k významným změnám v průběhu bobtnání. Zpočátku byla rychlost nižší, stejně tak byla nižší hodnota maxima stupně bobtnání. Maximum bylo posunuto do polovičního intervalu 7 dní. Následovalo týdenní odbobtnání s minimem v záznamu. Toto minimum představovalo snížení stupně bobtnání na polovinu maximální hodnoty, tedy ze 140 % na 70 %. Eroze probíhala prakticky stejně jako v prostředí pufru ve zředění 0,5 násobném proti isotonickému.

4.8 K bobtnání a erozi v prostředí pufru o isotonické a hypertonické koncentraci

Testování vzorků nosiče v prostředí isotonického fosfátového pufru bylo provedeno v jedné sérii ve dvou opakováních. Výsledky jsou zaznamenány na Obr. 29 a 30. Při srovnání s průběhem bobtnání v pufru s koncentrací fosfátů o 40 % nižší (Obr. 27) je možno konstatovat podobný průběh. Odlišná je vyšší rychlost bobtnání a vyšší dosažené maximum. Po druhé fázi odbobtnání do 14. dne následuje odlišná fáze pseudorovnováhy. Eroze byla v tomto nosiči v počáteční fázi pomalejší, za 21 dní byl prokázán 30 % zbytek oligoesterového tělíska.

Bobtnání v hypertonickém pufru s dvojnásobnou koncentrací fosforečnanů oproti isotonickému se značně lišilo od situace, která je pro isotonický pufr popsána výše. Po první třídenní fázi bobtnání o 60 % původního objemu tělíska následovala druhá fáze pseudorovnováhy, která trvala až do konce pokusu. Pokud jde o průběh eroze, odlišnost byla v třídenním počátečním lag-time. Podobnost průběhu bobtnání v hypertonickém médiu s průběhem stejného děje v prostředí vody je možno pokládat za čistě náhodnou. Ve vodě se uplatní hydrofobní charakter polyesteru, zatímco v hypertonickém pufru snížená hydratace ionizovaných karboxylů silnějším elektrolytem.

5 Závěr

Průběh bobtnání a eroze biodegradabilních polyesterů a oligoesterů alifatických hydroxykyselin jsou dva děje, které mohou mít význam při uvolňování léčivých látek z monolitických implantátů. Bylo prokázáno, že bobtnání tělísek daného typu je značně více citlivé na změny různých fyzikálních, fyzikálněchemických a chemických podmínek než jejich eroze. Při testování oligoesteru kyseliny glykolové, kyseliny DL-mléčné a mannitolu v prostředí fosfátového pufru pH 7 při teplotě 37 °C bylo prokázáno, že relativně malé změny koncentrace pufru mají značný vliv na průběh bobtnání od monotónního progresivního bobtnání přes dvoufázový proces bobtnání a odbobtnání s maximem charakteristiky k třífázovému ději definovanému maximem a minimem hodnot stupně bobtnání. Mezi průběhem bobtnání a eroze obvykle nebývá prakticky žádná souvislost, v některých případech se může projevit souvislost mezi intenzivní konvekcí způsobenou rychlým bobtnáním a zpomalenou erozí, případně také souvislost mezi pomalým bobtnáním a zvýšenou autokatalytickou hydrolýzou. Celková doba eroze tělísek z materiálu daného typu byla přibližně od tří do pěti týdnů.

Použitá literatura

1. Gross, R. A. & Kalra, B. Biodegradable polymers for the environment. *Science* 297, 803–807 (2002).
2. Middleton J.C. and J.M. Tipton. Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices | MDDI Medical Device and Diagnostic Industry News Products and Suppliers. (1998). [online]. [cit. 2015-01-14]. Dostupné z: <http://www.mddionline.com/article/synthetic-biodegradable-polymers-medical-devices>
3. Makadia, H. K. & Siegel, S. J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel)*. 3, 1377–1397 (2011).
4. Van Ginkel, C. G. & Gayton, S. The biodegradability and nontoxicity of carboxymethyl cellulose (DS 0.7) and intermediates. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 270–274 (1996).
5. Uhrich, K. E., Cannizzaro, S. M., Langer, R. S. & Shakesheff, K. M. Polymeric systems for controlled drug release. *Chem. Rev.* 99, 3181–98 (1999).
6. Krishna, S. V. et al. EP 1753869 A2 - Production of polylactic acid (pla) from renewable feedstocks. (2007). [online]. [cit. 2015-01-27]. Dostupné z: <http://patentimages.storage.googleapis.com/EP1753869B1/imgb0001.png>
7. Langer, R. New methods of drug delivery. *Science* 249, 1527–33 (1990).
8. R.L.Dunn, J. P. English, D.R.Cowar, D. P. V. US 4938763 A - Biodegradable In-situ Forming Implants And Methods Of Producing The Same - The Lens. [online]. [cit. 2015-01-15]. Dostupné z: http://www.lens.org/lens/patent/US_4938763_A
9. Madan Madhu, L. S. and aig J. A. Biodegradable injectable implant systems for sustained delivery using poly (lactide-co-glycolide) copolymers. (2009) [online]. [cit. 2014-12-29]. Dostupné z: <http://www.ijppsjournal.com/Vol1Suppl1/243.pdf>

10. Schwendeman, S. P., Shah, R. B., Bailey, B. A. & Schwendeman, A. S. Injectable controlled release depots for large molecules. *J. Control. Release* 190, 240–53 (2014).
11. Park, K. I. & Xanthos, M. A study on the degradation of polylactic acid in the presence of phosphonium ionic liquids. *Polym. Degrad. Stab.* 94, 834–844 (2009).
12. Park, T. G. Degradation of poly(d,l-lactic acid) microspheres: effect of molecular weight. *J. Control. Release* 30, 161–173 (1994).
13. Lu, L., Garcia, C. A. & Mikos, A. G. In vitro degradation of thin poly(DL-lactic-co-glycolic acid) films. *J. Biomed. Mater. Res.* 46, 236–44 (1999).
14. Holy, C. E., Dang, S. M., Davies, J. E. & Shoichet, M. S. In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam. *Biomaterials* 20, 1177–1185 (1999).
15. Ramchandani, M. & Robinson, D. In vitro and in vivo release of ciprofloxacin from PLGA 50:50 implants. *J. Control. Release* 54, 167–75 (1998).
16. Brunner, A., Mäder, K. & Göpferich, A. pH and Osmotic Pressure Inside Biodegradable Microspheres During Erosion. *Pharm. Res.* 16, 847–853 (1999).
17. Crotts, G. & Park, T. G. Protein delivery from poly(lactic-co-glycolic acid) biodegradable microspheres: release kinetics and stability issues. *J. Microencapsul.* 15, 699–713 (2008).
18. Li, S., Girard, A., Garreau, H. & Vert, M. Enzymatic degradation of polylactide stereocopolymers with predominant d-lactyl contents. *Polym. Degrad. Stab.* 71, 61–67 (2000).
19. Berkland, C. et al. Macromolecule release from monodisperse PLG microspheres: control of release rates and investigation of release mechanism. *J. Pharm. Sci.* 96, 1176–91 (2007).
20. Lewis, A. Bydureon Development at Alkermes: Interview with Rajesh Kumar. (2012). [online].[cit. 2014-12-29]. Dostupné z: <http://www.controlledreleasesociety.org/publications/intrack/Pages/it0002.aspx>

21. Kranz, H., Ubrich, N., Maincent, P. & Bodmeier, R. Physicomechanical properties of biodegradable poly(D,L-lactide) and poly(D,L-lactide-co-glycolide) films in the dry and wet states. *J. Pharm. Sci.* 89, 1558–66 (2000).
22. Lucas, N. et al. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere* 73, 429–42 (2008).
23. Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M. & Axelsson, A. The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems--a review. *Int. J. Pharm.* 415, 34–52 (2011).
24. Ford Versypt, A. N., Pack, D. W. & Braatz, R. D. Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA microspheres--a review. *J. Control. Release* 165, 29–37 (2013).
25. Sansdrap, P. & Moës, A. . In vitro evaluation of the hydrolytic degradation of dispersed and aggregated poly(dl-lactide-co-glycolide) microspheres. *J. Control. Release* 43, 47–58 (1997).
26. Eniola, A. O. A. O. & Hammer, D. A. D. A. Characterization of biodegradable drug delivery vehicles with the adhesive properties of leukocytes II: effect of degradation on targeting activity. *Biomaterials* 26, 661–70 (2005).
27. Wada, R., Hyon, S.-H. & Ikada, Y. Kinetics of diffusion-mediated drug release enhanced by matrix degradation. *J. Control. Release* 37, 151–160 (1995).
28. Li, S. M., Garreau, H. & Vert, M. Structure-Property Relationships in the Case of the Degradation of Massive Poly(Alpha-Hydroxy Acids) in Aqueous-Media .3. Influence of the Morphology of Poly(L-Lactic Acid). *J. Mater. Sci. Med.* 1, 198–206 (1990).
29. Raman, C., Berkland, C., Kim, K. & Pack, D. W. Modeling small-molecule release from PLG microspheres: effects of polymer degradation and nonuniform drug distribution. *J. Control. Release* 103, 149–58 (2005).
30. Dittrich, M. & Snejdrova, E. Cyclic swelling as a phenomenon inherent to biodegradable polyesters. *J. Pharm. Sci.* 103, 3560–6 (2014).
31. Mayet, N. et al. A comprehensive review of advanced biopolymeric wound healing systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103, 2211–2230 (2014).

32. Goldberg, M., Langer, R. & Jia, X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 18, 241–268 (2007).
33. Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E. & Eccleston, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *J. Pharm. Sci.* 97, 2892–923 (2008).
34. Schultz, G. S., Barillo, D. J., Mozingo, D. W. & Chin, G. A. Wound bed preparation and a brief history of TIME. *Int. Wound J.* 1, 19–32 (2004).
35. Suresh Kumar R.V., Sastry T.P., Kavitha K., Vidyavathi M.T.V.L., H. B. Preparation and Evaluation of Chitosan-Gelatin Composite Films for Wound Healing Activity. 124–129 (2010). [online]. [cit. 2015-01-27]. Dostupné z: <http://medind.nic.in/ta/t10/ii/taat10iip123.pdf>
36. Schultz, G. S. et al. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Repair Regen.* 11, S1–S28 (2003).
37. Sharma, W. P. and C. P. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review. 19–22 (2004). [online]. [cit. 2015-01-27]. Dostupné z: <http://medind.nic.in/ta/t04/i1/taat04i1p18.pdf>
38. Malafaya, P. B., Silva, G. A. & Reis, R. L. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 207–33 (2007).
39. Bourke, S. L. et al. A photo-crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogel growth factor release vehicle for wound healing applications. *AAPS PharmSci* 5, E33 (2003).
40. Lee, K. Y. & Mooney, D. J. Hydrogels for Tissue Engineering. *Chem. Rev.* 101, 1869–1880 (2001).
41. Qiu, L. Y. & Bae, Y. H. Polymer architecture and drug delivery. *Pharm. Res.* 23, 1–30 (2006).
42. Kim, T. G. & Park, T. G. Biomimicking extracellular matrix: cell adhesive RGD peptide modified electrospun poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) nanofiber mesh. *Tissue Eng.* 12, 221–33 (2006).

43. Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A. & Peppas, N. A. Hydrogels in regenerative medicine. *Adv. Mater.* 21, 3307–29 (2009).
44. Nair, L. S. & Laurencin, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science (Oxford)* 32, 762–798 (2007).
45. Jones, V., Grey, J. E. & Harding, K. G. Wound dressings. *BMJ* 332, 777–80 (2006).
46. Rayment, E. A., Dargaville, T. R., Shooter, G. K., George, G. A. & Upton, Z. Attenuation of protease activity in chronic wound fluid with bisphosphonate-functionalised hydrogels. *Biomaterials* 29, 1785–95 (2008).
47. Queen, D., Orsted, H., Sanada, H. & Sussman, G. A dressing history. *Int. Wound J.* 1, 59–77 (2004).
48. Lawrence, J. C. Dressings and wound infection. *Am. J. Surg.* 167, S21–S24 (1994).
49. Gultekin, G. et al. Fatty acid-based polyurethane films for wound dressing applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20, 421–31 (2009).